

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LYON
(MENTION : SCIENCES NATURELLES)

PAR

Mounir GHANDOUR

Licencié ès Sciences
de l'Université de Genève

1^{re} THÈSE. — Pouvoir Sensibilisant et Pouvoir Anti-
estérasique de quelques drogues vis-à-vis de
l'Acétylcholine.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le Novembre 1940, devant la Commission d'examen

MM. CARDOT..... *Président.*

JULLIEN }
KUHNER... .. } *Examineurs.*

IMPRIMERIE MODERNE
CLERMONT-FERRAND

—
1940

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LYON
(MENTION : SCIENCES NATURELLES)

PAR

Mounir GHANDOUR

Licencié ès Sciences
de l'Université de Genève

1^{re} THÈSE. — Pouvoir Sensibilisant et Pouvoir Anti-
estérasique de quelques drogues vis-à-vis de
l'Acétylcholine.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le Novembre 1940, devant la Commission d'examen

MM. CARDOT..... *Président.*
JULLIEN }
KUHNER } *Examineurs.*

IMPRIMERIE MODERNE
CLERMONT-FERRAND

1940

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. DOUIN, *, I, I, *Botanique.*

Assesseur

M. CARDOT, *, I.

Doyen honoraire

M. LONGCHAMBON, *, I, I, I, I.

Professeurs honoraires

MM. VESSIOT, C. *, I
RIGOLLOT, *, I.
COUTURIER, *, I, I.
DULAC, *, I.
VANEY, *, I, I.
ROMAN, *, I.

Professeurs

MM. MEUNIER, O. *, I, *Chimie industrielle.*
SIRE, *, I, I, *Mécanique rationnelle et appliquée.*
CARDOT, *, I, *Physiologie générale.*
LOCQUIN, *, I, *Chimie générale.*
LONGCHAMBON, *, I, I, I, *Minéralogie.*
DOUIN, *, I, I, *Botanique.*
DÉJARDIN, *, I, *Physique générale.*
SOLLAUD, I, *Zoologie.*
THIBAUD, A., *Physique expérimentale.*
LEMARCHANDS, *, I, *Chimie minérale.*
EYRAUD, I, *Calcul différentiel et intégral.*
THORAL, A., *Géologie.*
FROMAGEOT, I, *Chimie biologique.*
AUMÉRAS, I, *Chimie physique.*



Maîtres de conférences

- MM. DŒUVRE, ☞ I., *Chimie organique*.
PRETTRE, *Chimie minérale*.
KÜHNER, *Botanique*.
M^{me} DUBREIL-JACOTIN, *Mathématiques*.
M. BERNARD, *Zoologie*.

Chargés de cours complémentaires

- M^{lle} BACHRACH, ☞ I., *Physiologie*.
MM. DUFAY, *Astronomie et Physique supérieure*.
VIRET, ☞ I., *Etude des roches*.
TRONCHET, ☞ A., *Botanique*.
MAYET, ✱, ☞ I., ✱, *Anthropologie*.
PELOSSE, ☞ I., *Sériciculture*.
COLONGE, ☞ A., *Chimie générale*.

Secrétaire

- M. ROUX, ☞ A.
-

A LA MEMOIRE DE MES PARENTS

A MES SŒURS

A MES AMIS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR H. CARDOT

Professeur à la Faculté des Sciences de Lyon
Directeur de l'Institut de Physiologie de Tamaris
Chevalier de la Légion d'Honneur

A NOTRE JURY DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. JULLIEN

Professeur de Zoologie à la Faculté des Sciences de Besançon
Chevalier de la Légion d'Honneur
Croix de guerre

MONSIEUR R. KUHNER

*Maître de Conférences à la Faculté des Sciences
de l'Université de Lyon

Hommage respectueux et reconnaissant,

A NOS MAÎTRES

DE L'UNIVERSITÉ DE CLERMONT-FERRAND

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. DODEL

Professeur de Physiologie
Lauréat de l'Académie de Médecine
Médecin des Hôpitaux
Docteur ès-Sciences

MONSIEUR LE DOCTEUR G. DASTUGUE

Professeur suppléant de Physiologie
Lauréat de la Faculté et de l'Académie de Médecine
Pharmacien en Chef des Hôpitaux
Docteur en Pharmacie
Docteur ès-Sciences

*Qui non seulement nous ont inspiré le
sujet de cette thèse, mais qui nous ont cons-
tamment dirigé et guidé au cours de son
élaboration.*

*Témoignage de notre vive et respectueuse
gratitude.*

INTRODUCTION

S'il est une méthode de dosage biologique universellement répandue à l'heure actuelle, c'est bien le dosage de l'acétylcholine, suivant la technique que MINZ a préconisée dès 1932, en mettant à profit l'extraordinaire sensibilité du muscle de sangsue énervé et ésériné, sensibilité mise en évidence par FUHNER, en 1918 ; et cependant le mécanisme intime de cette sensibilisation est encore loin d'être parfaitement connu.

A cette question, notre maître M. le Docteur DASTUGUE a consacré récemment un ouvrage (1) dans lequel, en tenant compte de nombreux travaux antérieurs et de ses résultats personnels (notamment le haut pouvoir favorisant de la dihydrooxycodénone au moins égal à celui de l'ésérine) il a fait la part de ce qui pouvait être considéré comme acquis et de ce qui restait à résoudre.

Nous nous sommes proposés d'examiner deux des difficultés ainsi mises en évidence et qui sont les suivantes :

D'une part, quelques drogues capables de sensibiliser la musculature de sangsue à l'acétylcholine, quand elles

(1) G. DASTUGUE. — Etude critique et expérimentale du dosage de l'acétylcholine par les méthodes biologiques. *Thèse doctorat ès-Sciences Naturelles*, Lyon, 15 mars 1940.

sont employées seules, deviennent antagonistes si on les fait agir après l'ésérine. Il restait à savoir si cette propriété s'étendait à toutes les substances favorisantes, si elle persistait quand la drogue était ajoutée avant ésérine et si une interprétation valable pouvait être proposée.

D'autre part, il est admis par la majorité des auteurs que la sensibilisation par l'ésérine est due, au moins à titre de facteur prépondérant, à son fort pouvoir anticholinestérasique qui lui permet d'empêcher la destruction de l'acétylcholine par une estérase présente dans la plupart des tissus. Mais le pouvoir anticholinestérasique des substances favorisantes avait toujours été calculé suivant la protection exercée par ces substances vis-à-vis de la destruction de l'acétylcholine en présence de sérum de cheval. Or, dans le cas de la dihydrooxycodéine (G. DASTUGUE, 1939), le pouvoir anticholinestérasique vis-à-vis du sérum de cheval s'est montré très différent de ce qu'il était vis-à-vis d'un extrait de sangsue. Il restait à savoir si ce cas remarquable constituait une simple exception ou représentait, au contraire, la règle générale et si, dès lors, on ne trouverait pas dans ce phénomène la cause de bien des divergences signalées par les auteurs entre le pouvoir anticholinestérasique d'une drogue et son pouvoir sensibilisateur.

Qu'on ne s'attende donc pas à nous voir reprendre en détail dans ce mémoire l'exposé de tous les problèmes soulevés par la question du dosage biologique de l'acétylcholine.

Cette thèse correspondra, à peu de chose près, à la simple relation de nos recherches personnelles que nous comptons développer de la façon suivante :

PREMIÈRE PARTIE : *Action sensibilisante vis-à-vis de l'acétylcholine d'une quarantaine de drogues*

- a) sur une préparation de sangsue non ésérinée ;
- b) sur une préparation de sangsue ésérinée (addition de la drogue *après* ésérine ;
- c) sur une préparation de sangsue ésérinée (addition de la drogue *avant* ésérine.

DEUXIÈME PARTIE : *Action anticholinestérasique* des mêmes substances, considérée,

- a) vis-à-vis du sérum de cheval ;
- b) vis-à-vis d'un extrait musculaire de sangsue.

Nous serons donc de la sorte en possession de cinq listes différentes, bien que toutes formées des mêmes facteurs et qu'il nous restera à rapprocher, à discuter et à interpréter.

A la fin de ces recherches, c'est pour nous un agréable devoir que de présenter nos respectueux remerciements à M. le Professeur CARDOT qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse et à MM. les Professeurs DODEL et DASTUGUE qui, au cours de son élaboration, nous ont sans cesse apporté l'appui de leur haute expérience et de leurs précieuses directives.

PREMIÈRE PARTIE

ACTION SENSIBILISANTE

CHAPITRE I

ACTION SENSIBILISANTE SUR UNE PRÉPARATION NON ÉSÉRINÉE

Technique. — La musculature de sangsue (partie dorsale antérieure) privée de sa chaîne nerveuse, suivant la technique aujourd'hui classique, est immergée dans une solution de Ringer pour grenouilles, préparée suivant les indications de WACHHOLDER (1933) avec un pH voisin de 7,1. Nous avons utilisé la solution d'hiver : ClNa 6,27 g ; ClK 0,154 g ; Cl_2Ca 0,156 g ; PO_4H_3 N 1,81 cm³ et CO_3Na_2 q. s.

Les contractions du muscle sont enregistrées grâce à un levier amplificateur (multiplication : 5,5) sur un cylindre animé d'un mouvement très lent (vitesse tangentielle : 7,5 cm-heure). Enfin, un courant d'oxygène arrivant bulle à bulle est indispensable pour obtenir une sensibilité satisfaisante de la préparation. Sous l'influence d'un poids convenable (environ 2 g) le muscle se détend peu à peu. Au bout d'un certain temps (une

heure et demie à deux heures) la trace laissée par le stylet est horizontale et l'expérience peut commencer.

La préparation est alors étalonnée avec une solution de chlorhydrate d'acétylcholine à 1 p. 400.000 agissant pendant 3 minutes. Après lavage et retour du muscle à son tonus initial, la substance dont on recherche l'action favorisante est ajoutée et 6 minutes après on essaie encore l'acétylcholine. Enfin, après plusieurs lavages, on termine l'expérience par un dernier étalonnage avec l'acétylcholine employée seule.

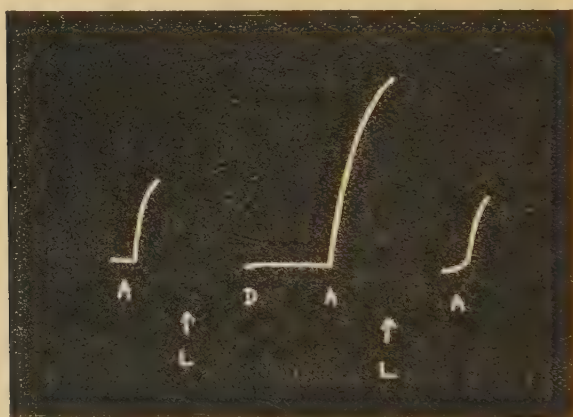


FIG. 1. — Muscle de Sangsue énervé et non ésériné

Le Dicodid favorisant à 1 p. 100.000.000

A : Acétylcholine à 1 p. 400.000 (3 min.)

D : Dihydrocodénone (Dicodid) à 1 p. 100.000.000 (6 min.)

L : Lavages

Résultats. — Ils sont condensés dans le tableau suivant. La concentration indiquée est, pour les substances favorisantes, celle qui double la sensibilité de la musculature, pour les substances antagonistes, celle qui la réduit de moitié.

TABLEAU I

PRÉPARATIONS NON ÉSÉRINÉES

SUBSTANCES FAVORISANTES		SUBSTANCES INACTIVES		SUBSTANCES ANTAGONISTES	
Concentrations		Concentrations		Concentrations	
Sulfate d'Esérine		Sulfate de Vértarine ..	1 p.	Sulf. de Strychnine....	1 p.
Chl. de Dihydrooxycodénone	1 p.	Nicotine	1 p.	Caféine	1 p.
Chl. d. Dihydrocodénone	100.000.000	Nitrate d'Aconitine ..	1 p.	Chlorure de Potassium..	50.000
Prostigmine	1 p.	Formaldéhyde	1 p.	Phénosafranine	1 p.
Salicyl. de Gènesérine..	15.000.000	Novarsénobenzol	1 p.	Vitamine B ₁	10.000
Bleu de Méthylène	1 p.	Phénylurée	1 p.	Chlorure de Calcium ..	1 p.
Chl. de Morphine	500.000	Chl. d'Adréaline	1 p.	Chlorure de Magnésium	1.000
Codéine	1 p.	Sulf. de Spartéine	1 p.		
Sulf. de Quinine	1 p.	Fluorure de Sodium ..	1 p.		
Chl. de Choline	1 p.	Uréthane	1 p.		
Thionine	1 p.	Uroformine	1 p.		
Rouge neutre	1 p.	Colechicine	1 p.		
Chl. de Pilocarpine	1 p.	Chlorure de Sodium	8,5 p.		
Bichl. d'Histamine	1 p.				
Pentaméthylentétrazol.	1 p.				
Chl. d'Héroïne	1 p.				

Substances favorisantes

Ces résultats appellent, croyons-nous, les remarques suivantes :

Travaux antérieurs. — Depuis la découverte par FUHNER en 1918 du pouvoir sensibilisant de l'ésérine vis-à-vis de l'acétylcholine, aucune substance capable de potentialiser la préparation de sangsue à un tel degré n'avait été trouvée. En 1939, DASTUGUE a mis en évidence l'action de la dihydrooxycodéinone qui ne le cède en rien à celle de l'ésérine. A notre tour, nous avons trouvé dans le chlorhydrate de dihydrocodéinone une drogue douée d'un pouvoir sensibilisateur intense puisque celui-ci s'exerce encore, comme dans le cas de l'ésérine et de la dihydrooxycodéinone, à la dilution de 1 p. 100.000.000.

En ce qui concerne les autres substances favorisantes, nos recherches se trouvent « recoupées » par celles d'un assez grand nombre d'auteurs.

MINZ (1932) a signalé l'hypersensibilité du muscle de sangsue sous l'influence de la choline. Le même fait a été observé pour l'histamine (BAYER et WENSE, 1936), pour la gènesérine, l'éphédrine, l'antipyrine, la choline (E. KAHANE et J. LEVY, 1937), pour la créatinine (1 p. 10.000), le cardiazol (1 p. 5.000 à 1 p. 10.000), la coramine (1 p. 1.000 à 1 p. 5.000), (EMMELIN et KAHLSON, 1937). Répétant ces expériences en ce qui concerne la créatine et la créatinine, D. VINCENT (1938) n'a trouvé qu'une très faible sensibilisation. GAUTRELET et ses collaborateurs (1935-1936) n'ont pas retrouvé l'action sensibilisante attribuée par certains auteurs à la pilocarpine et à la guanidine. BINET et MINZ (1934-1935) ont noté que si l'on excite électriquement un fragment de nerf vague isolé dans une solution de RINGER-LOCKE, on constate le pas-

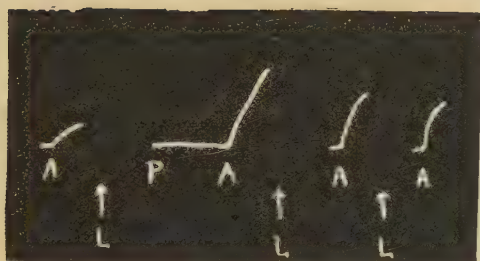


FIG. 2. — Muscle de Sangsue énérvé et non ésériné

La Prostigmine favorisant à 1 p. 15.000.000

A : Acétylcholine à 1 p. 400.000 (3 min.)

P : Prostigmine à 1 p. 15.000.000 (6 min.)

L : Lavages

sage dans le liquide d'une substance thermostable qui sensibilise à l'acétylcholine le muscle dorsal de sangsue. Par la suite, les mêmes auteurs ont précisé que l'excitation du pneumogastrique par voie réflexe aboutissait à la production d'une substance jouissant de la même propriété. Enfin MINZ et ses collaborateurs ont cru pouvoir identifier cette substance sensibilisante, libérée par l'excitation du nerf vague, avec la vitamine B₁.

E. CORTEGGIANI a signalé la sensibilisation importante du muscle de sangsue ésériné vis-à-vis de l'acétylcholine par l'augmentation en chlorure de sodium du bain ; si cette concentration passe de 6,5 p. 1.000 à 9,5 p. 1.000 on remarque déjà une légère sensibilisation à l'acétylcholine. C'est sans doute pour cette raison, que LANARI (1935) a préconisé un Ringer spécialement enrichi en chlorure de sodium (12 p. 1.000). Mais une telle formule semble devoir être rejetée, car si le muscle est en effet très sensible à l'acétylcholine, au début de l'expérience, cette sensibilité est peu stable, elle décroît rapidement, et par suite, ne permet pas un dosage précis.

Enfin, E. KAHANE et J. LEVY ont insisté récemment sur le pouvoir sensibilisateur de la morphine ; P. DODEL, G. DASTUGUE et A. BRESSON sur celui des alcaloïdes dérivés de la morphine (héroïne, thébaine, dionine, génomorphine, papavérine, colarnine, apomorphine, dihydromorphine, codéine et notamment la dihydrooxycodéine).

On voit donc que dans l'ensemble des cas où la comparaison a été possible nos résultats concordent avec ceux de nos devanciers. Même au sujet de la vitamine B₁ nous ne sommes pas, dans ce chapitre, où il s'agit de préparations non ésérinées, en désaccord avec MINZ et AGID (1937), puisque ceux-ci ne parlent de l'action favorisante de la vitamine B₁ que sur une sangsue ésérinée. Toutefois, sur l'intestin isolé de rat et la pression artérielle du chat, les mêmes auteurs (AGID, BONVALLET et MINZ, 1937) signalent, même en l'absence d'ésérine, un renforcement de l'action de l'acétylcholine sous l'influence de la vitamine B₁. Mais ces résultats ne peuvent pas être considérés comme contradictoires, puisqu'il s'agit de tests différents. Nous reviendrons d'ailleurs sur cette question quand nous examinerons les substances antagonistes.

Pouvoir de fixation. — Cependant, certains points particuliers restent à préciser. Pour la dihydrocodéinone (dicodid) nous notons un pouvoir de fixation excessivement faible ; c'est-à-dire qu'une seule série de lavages suffit pour rendre à la préparation sa sensibilité initiale. Le même fait avait été signalé pour la dihydrooxycodéinone (eucodal) (G. DASTUGUE et M. GHANDOUR) alors que l'intensité de fixation est très forte pour l'ésérine (E. KAHANE et J. LEVY ; G. DASTUGUE et M. GHANDOUR). Pour ce dernier alcaloïde, à des dilutions de 1 p. 20.000.000 ou 1 p. 40.000.000, la fixation est encore si forte que, après une série de lavages, la réponse à l'acétylcholine est au moins aussi intense que celle qui avait immédiatement

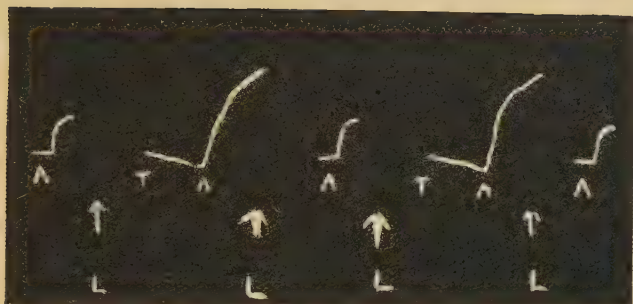


FIG. 3. — Muscle de Sangsue énervé et non ésériné

La Thionine favorisant à 1 p. 50.000

A : Acétylcholine à 1 p. 400.000 (3 min.)

T : Thionine à 1 p. 50.000 (6 min.)

L : Lavages

suivi l'addition d'ésérine, et que, même après 5 ou 6 séries de lavages, on n'arrive pas à retrouver la sensibilité initiale.

La prostigmine et la générésine, substances agissant à faible dose (1 p. 15.000.000 et 1 p. 1.500.000) se rattachent, quant à leur pouvoir de fixation, à l'ésérine. Il nous a fallu pour supprimer leur action sensibilisante laver le muscle qui a été en contact, pendant 6 minutes, avec l'une ou l'autre de ces deux substances, un grand nombre de fois (4 ou 5 séries de 3 lavages chacune) et souvent même sans succès.

Par contre, le bleu de méthylène (chlorure de tétraméthyldiamino-diphénylthiazinium), la thionine (chlorure de diamino-thiodiphénylamine), le rouge neutre (chlorhydrate de diméthyldiaminotoluphénazine) et les autres substances que nous citons comme favorisantes appartiennent au type dihydro —, ou dihydrooxycodéine à pouvoir de fixation très faible.

Nous retiendrons de ces remarques qu'il existe, de

ce point de vue, deux catégories de substances favorisantes. Les unes se fixent avec une grande intensité, dès que leur dose devient sensibilisante : 1 p. 40.000.000 pour l'ésérine ; 1 p. 15.000.000 pour la prostigmine et 1 p. 1.500.000 pour la génésérine ; les autres pour lesquelles on peut dépasser de beaucoup la dose sensibilisante la plus faible (dihydrocodeinone, dihydrooxycodeinone, bleu de méthylène, etc.) et retrouver, après lavages, la sensibilité initiale.

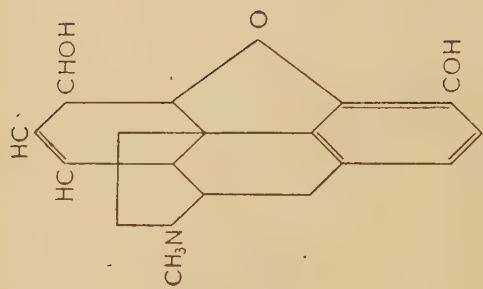
En généralisant les commentaires fournis par E. KAHANE et J. LEVY dans la comparaison qu'ils font entre la persistance de l'effet de l'ésérine et la suppression facile de celui de la morphine, nous pourrions proposer, de l'existence des deux catégories de substances favorisantes dont nous parlions plus haut (type ésérine : fort pouvoir de fixation ; type dihydrooxycodeinone : pouvoir de fixation nul ou très faible), l'interprétation suivante :

Les substances favorisantes produiraient un certain degré d'inhibition de l'estérase émise dans le liquide d'immersion du muscle de sangsue. Après lavage ce liquide récupère par dialyse l'activité enzymatique habituelle du liquide d'immersion du muscle normal. Le liquide d'immersion du muscle de sangsue auquel on ajoute une substance du type ésérine (prostigmine, génésérine) ne récupère une activité normale qu'après une dialyse très prolongée ; celui auquel on ajoute une substance du type dihydrooxycodeinone (dihydrocodeinone, morphine, bleu de méthylène, etc.) la récupère rapidement. Tandis que l'émission de l'estérase inhibée à partir d'un muscle immergé dans le second liquide est très fugace, au contraire, cette émission est assez persistante à partir d'un muscle immergé dans le premier liquide. L'émission d'estérase non inhibée coïncide avec le retour du muscle à sa sensibilité normale, retour qui est donc plus ou moins rapide, suivant que le muscle a été en

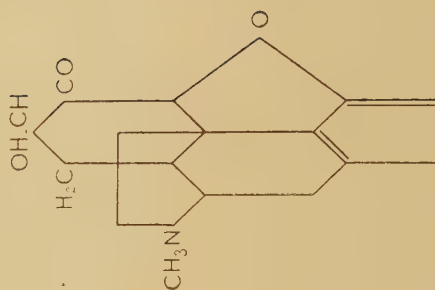
contact avec une substance du type ésérine (prostigmine; génésérine) ou une substance du type dihydrooxycodéine (dihydrocodéine, morphine, bleu de méthylène, etc.).

Constitution chimique et action pharmacodynamique. — En ce qui concerne les rapports susceptibles d'exister entre la constitution chimique des substances favorisantes et l'intensité de leur pouvoir potentialisateur nous pourrions en nous appuyant sur les résultats obtenus par DASTUGUE et BRESSON et nous-mêmes sur la série des alcaloïdes dérivés de la morphine, exprimer les remarques suivantes :

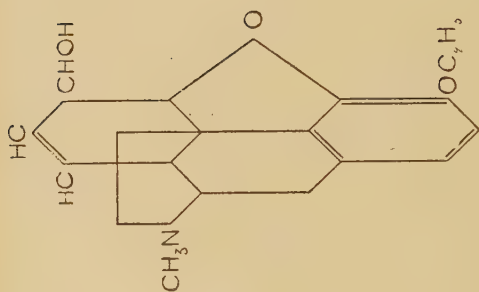
Nous prenons comme point de départ le pouvoir favorisant de la morphine elle-même qui, à la concentration de 1 p. 500.000 et dans les conditions que nous avons déjà exposées, double l'intensité de la réponse du muscle à l'acétylcholine. Le noyau qui sert de structure à la molécule de morphine on le retrouve intact chez l'héroïne, la dionine, la codéine, le dicodid et l'eucodal qui, tous, à un degré plus ou moins accentué, sont sensibilisateurs vis-à-vis de l'acétylcholine. L'attention se trouve alors naturellement attirée sur les groupements fonctionnels dont ce noyau est le support et notamment sur les deux groupements OH de la morphine (un OH phénolique et un OH alcoolique). Or l'héroïne ou diacétylmorphine est de la morphine dont les deux groupements OH sont remplacés par deux groupements acétyl. Son activité favorisante est 500 fois inférieure à celle de la morphine. La dionine ou éthylmorphine est de la morphine dans laquelle seul le groupement OH phénolique a été atteint. Celui-ci a été remplacé par le groupement OC_2H_5 . Son pouvoir potentialisateur supérieur à celui de l'héroïne est 100 fois inférieur à celui de la morphine. Si nous considérons maintenant la codéine, le dicodid et l'eucodal, nous voyons que le groupe OH phénolique est



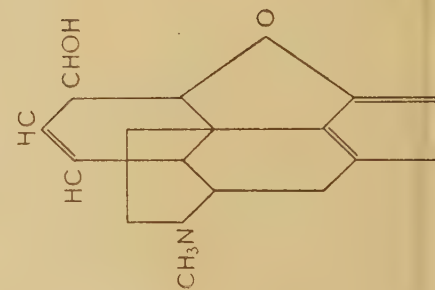
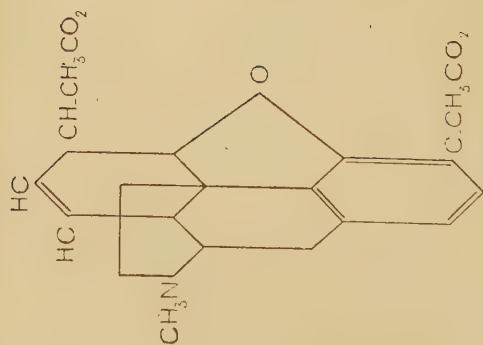
MORPHINE



DIONEINE



HEROINE



remplacé chez ces trois alcaloïdes par le groupe OCH_3 . Cette modification ne semble avoir qu'une influence très réduite sur le pouvoir potentialisateur de la molécule puisque les trois alcaloïdes ont un pouvoir potentialisateur sensiblement égal pour le premier et supérieur pour les deux derniers à celui de la morphine. Par contre, si dans la formule de la codéine dont le pouvoir potentialisateur est, nous le répétons, sensiblement égal à celui de la morphine, le groupement OH alcoolique est resté intact, dans les deux autres alcaloïdes, dicodid et eucodal, la fonction alcool secondaire CHOH est transformée en fonction cétone. Or, à ces deux alcaloïdes correspond un pouvoir potentialisateur intense pour le moins égal à celui de l'ésérine et 200 fois supérieur à celui de la morphine. Toutefois, il faut remarquer que cette transformation n'est pas la seule différence qui existe entre ces deux alcaloïdes et la codéine, le dicodid ou dihydrocodeinone possédant 2 atomes d'hydrogène de plus que la codéine et chez l'eucodal, ou dihydrooxycodeinone, l'un de ces hydrogènes étant remplacé par le groupement OH . Il faudrait donc connaître, à tout le moins, le pouvoir sensibilisateur de la codeinone pour pouvoir être affirmatif sur l'influence jouée par la transformation de la fonction alcool secondaire de la morphine et de la codéine en fonction cétone. Le nombre relativement restreint des alcaloïdes ainsi étudiés ne semble pas permettre de conclusions plus précises, mais il paraît bien que le pouvoir potentialisateur vis-à-vis de l'acétylcholine se présente, ici, comme une *propriété de groupe* et que l'étude pharmacodynamique des alcaloïdes voisins comparée avec ces premières constatations permettrait d'aboutir, plus facilement peut-être que dans le cas de l'ésérine, à une conclusion de valeur.

Substances inactives

Un grand nombre des substances inactives provoquant par elles-mêmes, à une certaine dose, la contraction du muscle de sangsue, les essais ont été limités à une concentration inférieure. Il en a été ainsi pour la vératrine active à 1 p. 20.000.000, la nicotine (1 p. 5.000.000), l'aconitine (1 p. 300.000), le formol (1 p. 50.000), le novarsénobenzol (1 p. 20.000), la spartéine et la phénylurée (1 p. 10.000), le fluorure de sodium (1 p. 2.000). En ce qui concerne le chlorure et le fluorure de sodium, nos résultats sont en accord avec les chiffres fournis par E. CORTEGGIANI (1938) d'une part, KAHLSON et UVNAS (1935) d'autre part ; pour l'adrénaline et l'uréthane avec ceux fournis par DASTUGUE (1937). Nous n'avons pas réussi à nous procurer des renseignements complémentaires sur l'action des autres substances.

Substances antagonistes

Les substances antagonistes semblent avoir été moins étudiées que les substances favorisantes. Th. FONTAINE (1935) a signalé l'alcool éthylique ; G. DASTUGUE (1937) les sels de magnésium et le chlorure de calcium.

E. CORTEGGIANI a insisté en 1938, sur l'influence inhibitrice de potassium. Après addition de 1 cm³ de ClK à 9 p. 1.000 aux 50 cm³ de Ringer ésériné renfermant le muscle de sangsue, la sensibilité de ce muscle à l'acétylcholine a diminué de moitié ; d'ailleurs, après quelques lavages, la sensibilité normale réapparaît. De même GOLLWITZER-MEIER et KRUEGER (1934) avaient déjà

signalé que le potassium libéré au cours de l'hémolyse était capable de masquer l'action, sur le muscle de sangsue, de l'acétylcholine contenue dans le sang.

Il nous paraît également intéressant de souligner l'action si fortement inhibitrice de la strychnine (à 1 p. 3.000.000) et de la caféine (à 1 p. 500.000) substances neuro-stimulantes par excellence.

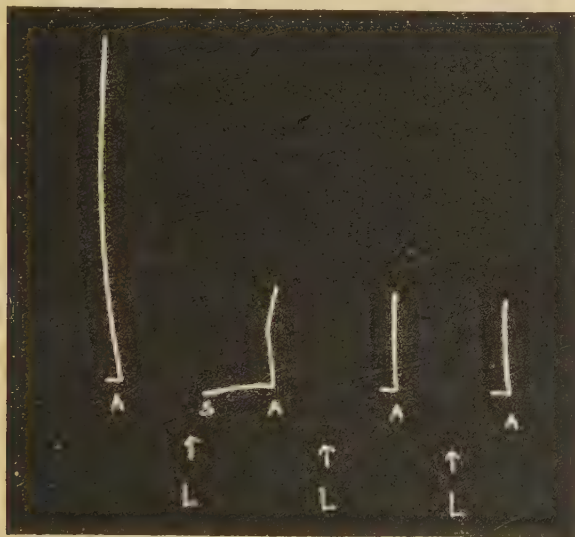


FIG. 4. — Muscle de Sangsue énérvé et non ésériné

La Strychnine antagoniste à 1 p. 3.000.000

A : Acétylcholine à 1 p. 400.000 (3 min.)

S : Strychnine à 1 p. 3.000.000 (6 min.)

L : Lavages

Notons cependant que OURY (1937) avait signalé un pouvoir sensibilisateur manifeste de la caféine vis-à-vis de l'acétylcholine sur le muscle droit abdominal de la grenouille et sur l'oreillette droite isolée de tortue (prépa-

ration non ésérinée) « Dans toutes les expériences — modification du temps d'action de la caféine et de la dose de cette dernière substance : 2 à 10 milligr. de caféine pure pour 100 cm³ de Ringer — la caféine a provoqué une sensibilisation considérable du muscle droit de grenouille à l'acétylcholine ». Mais ici non plus on ne peut affirmer qu'il y ait contradiction entre ces résultats et les nôtres, puisque OURY a mis en évidence ce pouvoir sensibilisateur de la caféine sur le muscle droit de grenouille, test différent de celui (muscle dorsal antérieur de sangsue) que nous avons employé. De plus, les essais sur le muscle de grenouille sont obligatoirement limités à une faible marge voisine d'une concentration en caféine de 1 p. 10.000. « A dose moins forte les résultats obtenus étaient moins nets et à des doses plus fortes des phénomènes de contracture dus à la caféine elle-même rendaient difficile l'interprétation des tracés ». Nous n'avons pas rencontré cette difficulté sur le muscle de sangsue : 1° l'action inhibitrice est incontestable à la dose de 1 p. 500.000, dose qui n'a pu donner aucun résultat net dans les conditions énoncées par OURY. 2° La caféine est inactive sur le tonus du muscle de sangsue même à la dose de 1 p. 1.000 (DASTUGUE, 1937).

La phénosafranine (constituée essentiellement par le chlorhydrate de diaminophénazine-phénylammonium), substance inhibitrice, s'oppose au bleu de méthylène, à la thionine et au rouge neutre, substances favorisantes. De plus, la phénosafranine présente la particularité d'être inactive à 1 p. 100.000 et aux concentrations plus faibles, antagoniste à 1 p. 50.000, inactive encore à 1 p. 20.000.

On ne constate rien de semblable pour le bleu de méthylène, par exemple, dont le pouvoir favorisant varie régulièrement dans le même sens que la concentration. A partir de 1 p. 500.000, toutes les doses que nous avons employées, 1 p. 100.000 et 1 p. 10.000 en particulier,

donnent au muscle une sensibilité croissante vis-à-vis de l'acétylcholine.

Quant à la vitamine B₁, nous pouvons affirmer, vu le nombre d'expériences que nous avons effectuées sur cette substance (employée sous forme de Bévité et de Bénerva), qu'elle possède à la dose de 1 p. 10.000 une action inhibitrice sur le muscle de sangsue non ésériné, vis-à-vis de l'acétylcholine sans que ce résultat puisse être attribué à une modification du pH du Ringer.

Malheureusement, nous n'avons pu essayer son action à des doses plus fortes. Mais nous sommes portés à croire que, même à des concentrations plus élevées que celle de 1 p. 10.000, l'action de la vitamine B₁ continue à être antagoniste étant donné, comme nous le noterons plus loin, l'absence de tout pouvoir anticholinestérasi-que de cette substance vis-à-vis de l'extrait de sangsue même à des concentrations très élevées (1 p. 1.000). Or, nous n'avons constaté l'absence de tout pouvoir anticholinestérasi-que que pour les substances inhibitrices ou inactives, jamais pour les substances favorisantes.

Une autre remarque sera encore formulée en ce qui concerne le *pouvoir de fixation* des substances inhibitrices. Tandis que nous avons classé les substances favorisantes, quant à leur pouvoir de fixation, en deux catégories (type ésérine : fort pouvoir de fixation ; type dihydrocodeinone : pouvoir nul), les substances inhibitrices semblent toutes avoir un fort pouvoir de fixation. Une série de lavages ne suffit, dans le cas d'aucune de ces substances, pour le retour de la musculature à sa sensibilité initiale. Nous n'avons jamais réussi à retrouver, même après plusieurs séries de lavages, cette sensibilité.

Conclusions

En résumé, nous avons étudié trente-six substances chimiques du point de vue des modifications de sensibilité qu'elles sont capables de faire subir à une préparation énervée mais non ésérinée de sangsue vis-à-vis de l'acétylcholine.

Il nous a été possible, de la sorte, de répartir ces substances en trois catégories suivant qu'elles sont favorisantes, inactives ou antagonistes. Un assez grand nombre de ces résultats avaient été déjà établis par des recherches antérieures que nous ne pouvons que confirmer. Mais il faut remarquer que ces recherches devaient être reprises avec une technique toujours identique pour aboutir, comme nous nous l'étions proposés, à une classification véritable.

Mais de plus, outre l'obtention de cette classification qui constituait le but essentiel de cette première partie de notre travail, nous avons été amenés, chemin faisant, à mettre en évidence l'action favorisante ou antagoniste de certaines drogues qui, croyons-nous, n'avait pas été signalée jusqu'ici.

Nous voulons faire allusion notamment à l'action fortement sensibilisatrice de la dihydrocodeinone (dicodid) qui est de même ordre de grandeur que celle de l'ésérine (FUHNER, 1918) et de la dihydrooxycodéinone (DASTUGUE, 1939) et en ce qui concerne l'action antagoniste, à celle si marquée de la strychnine, de la caféine et même de la vitamine B₁ ; antagonisme beaucoup plus fort que celui du chlorure de calcium et du chlorure de magnésium (DASTUGUE, 1937).

Nous avons insisté sur la répartition qui pourrait

être faite de ces drogues suivant leurs modalités — assez tranchées — de fixation et le degré de persistance de leur action.

Enfin, nous avons montré que, dans le cas tout au moins des alcaloïdes dérivés de la morphine, il était possible de faire un certain rapprochement entre la constitution chimique des substances sensibilisantes et leur action pharmacodynamique.

CHAPITRE II

ACTION SENSIBILISANTE SUR UNE PRÉPARATION ÉSÉRINÉE (addition *après* ésérine)

En 1937, QUASTEL et TENNENBAUM remarquèrent que les alcaloïdes suivant : morphine, héroïne, codéine, diosnine et apomorphine exerçaient une action inhibitrice vis-à-vis de l'acétylcholine quand on les faisait agir sur une préparation de sangsue ésérinée *au préalable*. E. KAHANE et J. LEVY (1939) ont confirmé l'action antagoniste de la morphine sur la préparation ésérinée, tout en soulignant son pouvoir sensibilisateur sur une préparation non ésérinée et cela non seulement vis-à-vis de l'acétylcholine, mais encore vis-à-vis des formyl, propionyl, et isobutylcholine. Par contre, pour les esters butyrique et benzoïque de la choline, la contraction est diminuée.

En 1939 encore, P. DODEL, G. DASTUGUE et A. BRESSON reprenaient cette question sur les alcaloïdes dérivés de la morphine. D'une part, comme nous l'avons déjà indiqué au chapitre précédent, ils établissaient une classification de ces alcaloïdes basée sur le pouvoir favorisant vis-à-vis d'une préparation de sangsue *non ésérinée* ; d'autre part, ils obtenaient une nouvelle classification en notant les concentrations de ces mêmes alcaloïdes suf-

fisantes pour produire une inhibition marquée quand on les fait agir *après ésérine*.

Héroïne	1 p.	200.000
Morphine	1 p.	100.000
Dihydromorphine	}	1 p. 50.000
Codéine		
Dionine	}	1 p. 10.000
Thébaïne		
Eucadal	}	peu ou pas d'action
Cotarnine		
Apomorphine		
	1 p.	5.000

Nous avons voulu à notre tour, examiner les différents aspects de cette influence qui devient tour à tour, et suivant les circonstances, favorisante ou antagoniste et nous nous sommes demandés :

1°) Si cette propriété, manifeste dans le cas des alcaloïdes dérivés de la morphine, s'étendait aux autres substances favorisantes et notamment à celles que nous avons déjà étudiées.

2°) Si cette propriété, manifeste quand la substance chimique en cause est ajoutée *après ésérination* de la musculature, persistait lorsque la même substance était ajoutée *avant ésérination*. La réponse à ces deux questions fera l'objet du présent chapitre et du suivant.

Technique. — Addition d'ésérine à 1 p. 500.000. Trois minutes plus tard, addition de la substance dont on recherche le pouvoir antagoniste. Six minutes plus tard, c'est-à-dire 9 minutes après l'ésérine, addition de l'acétylcholine (à 1 p. 40.000.000). Les étalonnages sont pratiqués sur la même préparation, en faisant agir l'ésérine 9 minutes avant l'acétylcholine.

Les résultats sont groupés dans le tableau suivant :

TABLEAU II

PRÉPARATIONS ÉSÉRINÉES (Addition de la drogue après ésérine)

SUBSTANCES FAVORISANTES		SUBSTANCES INACTIVES		SUBSTANCES ANTAGONISTES	
	Concentrations		Concentrations		Concentrations
Chl. de Choline	1 p.	Sulfate de Véraprine ..	1 p.	Prostigmine	1 p.
Rouge neutre	1 p.	Nikotine	1 p.	Sulf. de Strychnine	1 p.
Bichl. d'Histamine	1 p.	Salicyl. de Génésérine..	1 p.	Chl. d'Héroïne	1 p.
		Sulf. de Quinine	1 p.	Chl. de Morphine	1 p.
		Formaldéhyde	1 p.	Caféine	1 p.
		Sulfate de Sparteïne ..	1 p.	Phénosafranine	1 p.
		Pentaméthylènetétrazol.	1 p.	Bleu de Méthylène	1 p.
		Novarsénobenzol	1 p.		
		Chl. de Pilocarpine	1 p.		
		Vitamine B ₁	1 p.		
		Dihydrocodéinone	1 p.		
		Dihydrooxycodéinone ..	1 p.		
		Chlorure de Potassium			
		Fluorure de Sodium ..	1 p.		
		Thionine	1 p.		
		Chlorure de Magnésium			
		Uréthane			
		Uroformine	1 p.		
		Colchicine			
		Chlorure de Calcium ..			
		Chlorure de Sodium ...	8,5 p.		

Discussion. — Là encore nous distinguerons des substances favorisantes, des substances inactives, et des substances antagonistes.

Les substances favorisantes sont en petit nombre : chlorhydrate de choline, rouge neutre, bichlorhydrate d'histamine. Mais celles-ci aux concentrations respectives de 1 p. 100.000, 1 p. 10.000 et 1 p. 5.000 ont manifesté une sensibilisation indiscutable et que l'encadrement entre deux étalonnages met bien en relief. La choline et l'histamine ont conservé le pouvoir favorisant qu'elles exerçaient sur une préparation non ésérinée et cela, à la même dose. Pour le rouge neutre, il faut une concentration environ trois fois plus élevée.

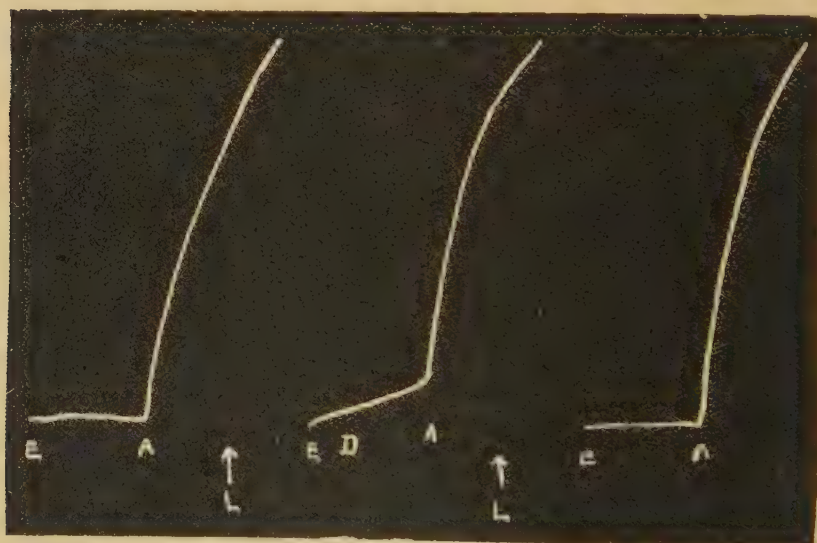


FIG. 5. — Muscle de Sangsue énérvé et ésériné
(Drogue après ésérine)

Le Dicodid inactif à 1 p. 10.000

A : Acétylcholine à 1 p. 400.000 (3 min.)

D : Dicodid à 1 p. 10.000 (6 min.)

E : Ésérine à 1 p. 500.000 (9 min)

L : Lavages

La choline, l'histamine et le rouge neutre conservent, ici, leur faible pouvoir de fixation qu'ils avaient dans le cas d'une préparation non ésérinée.

Les substances inactives, de beaucoup les plus nombreuses se subdivisent en trois groupes d'après leur action sur une préparation non ésérinée :

Le premier groupe est formé des substances qui étaient inactives : vératrine, nicotine, formol, novarsénobenzol, spartéine, uréthane, uroformine, colchicine, fluorure de sodium, chlorure de sodium.

Un second groupe provient des substances antérieurement favorisantes et même quelques-unes excessivement favorisantes : eucodal, dicodid, génésérine, quinine, thionine, cardiazol.

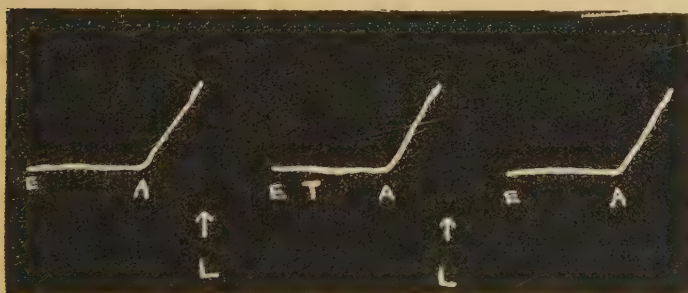


FIG. 6. — Muscle de Sangsue énervé et ésériné
(Droque après ésérine)

La Thionine inactive à 1 p. 5.000

E : Esérine à 1 p. 500.000 (9 min.)

A : Acétylcholine à 1 p. 40.000.000 (3 min.)

T : Thionine à 1 p. 5.000 (6 min.)

T : Thionine à 1 p. 5.000 (6 min.)

Quelques-unes enfin, possédaient une action antagoniste : chlorure de potassium, magnésium, calcium, vitamine B₁.

A première vue, d'après l'action fortement antagoniste du potassium sur une sangsue non éserinée (action signalée par GOLLWITZER-MEIER et KRUEGER et par nous-mêmes à la concentration de 1 p. 50.000 dans le chapitre I) on aurait pu croire que les résultats obtenus pour le dosage de l'acétylcholine dans le sang pouvaient être entachés d'erreur à cause de la présence de potassium. Or, dans nos expériences, le chlorure de potassium même à la concentration de 1 p. 10.000 reste sans action sur le muscle de sangsue éseriné.

La présence de potassium dans le sang ne peut donc présenter aucun inconvénient puisque le dosage de l'acétylcholine dans le sang se fait naturellement sur une préparation éserinée.

Nous obtenons en ce qui concerne l'action de la vitamine B₁ (après éserine) des résultats, — action nulle à 1 p. 10.000 — qui semblent en désaccord avec ceux de MINZ et AGID. Ces auteurs signalent, en effet, dans un travail consacré à l'identification d'une substance libérée par l'excitation électrique du nerf vague avec la vitamine B₁, un effet sensibilisateur de cette dernière substance sur le muscle dorsal éseriné de sangsue vis-à-vis de l'acétylcholine employée à 1 p. 100.000.000. « La même quantité d'acétylcholine ajoutée alors exerce une action qui dépasse de beaucoup celle provoquée par la même dose avant l'administration de la vitamine B₁. L'effet sensibilisateur de ce corps dépend, d'une part, du temps de son action, d'autre part, de sa présence dans la cellule à une concentration appropriée, c'est-à-dire d'un certain rapport optimum entre la concentration du corps et celle de l'acétylcholine ». Malheureusement, les auteurs cités ci-dessus ne donnent aucune précision quant aux doses de vitamine B₁ employées et nous ne pouvons dans ces conditions faire aucune comparaison valable avec nos

expériences correspondantes. Dans un autre travail sur l'action de la vitamine B₁ sur l'intestin isolé de rat, AGID, BONVALLET et MINZ, soulignent l'effet sensibilisateur exercé par la vitamine B₁ employée à la dose de 1.10^{-6} à 1.10^{-5} . Cet effet sensibilisateur, AGID, BONVALLET et MINZ l'ont observé en présence et « même en l'absence d'ésérine ». Ils semblent donc trouver dans le fait qu'une substance soit favorisante sur une préparation non ésérinée un exemple plus rare que celui fourni par le cas d'une substance favorisante après ésérine. Nous avons démontré le contraire dans ce chapitre : de toutes les substances favorisantes « sans ésérine » deux ou trois seulement le demeurent après ésérine.

Faisons remarquer, pour terminer l'étude des substances inactives après ésérine, que certaines d'entre elles acquièrent, par la présence d'ésérine, le pouvoir de provoquer par elles-mêmes la contracture du muscle de sangsue. En d'autres termes, l'action propre de ces drogues sur le tonus de la préparation est *sensibilisée* par l'ésérine. C'est ainsi que la pilocarpine, qui n'exerce par elle-même aucun effet à 1 p. 15.000 sur une préparation non ésérinée devient active à 1 p. 10.000 après addition d'ésérine ; le cardiazol inactif par lui-même à la dose de 1 p. 1.500 sur une préparation non ésérinée, devient, après ésérine, actif à 1 p. 20.000 ; de même la spartéine inactive à 1 p. 15.000 devient active de 1 p. 30.000 à 1 p. 40.000. Des exemples analogues avaient été signalés par FUHNER (1918) : le chlorure de baryum, la nicotine, la muscarine ; par MINZ (1932) : la neurine ; GAUTRELET et CORTEGGIANI (1936) : la bétaine, la vératrine, le chlorure de potassium. A toutes ces substances le muscle de sangsue serait sensibilisé par l'ésérine. Toutefois, DASTUGUE (1939) n'a pu confirmer ces résultats en ce qui concerne le chlorure de potassium, le chlorure de baryum, la nicotine et la vératrine.

Les substances antagonistes se présentent également en deux catégories bien distinctes. Nous avons, d'une part, des drogues qui étaient déjà antagonistes (sur une préparation non ésérinée), strychnine, caféine et phénosafranine. Pour deux d'entre elles (strychnine et caféine) il a fallu, d'ailleurs, élever assez fortement la dose pour retrouver le même effet.

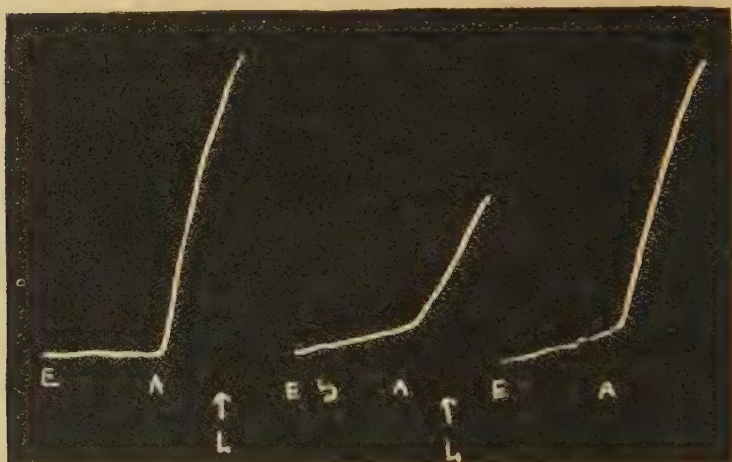


FIG. 7. — Muscle de Sangsue énervé et ésériné
(Drogue après ésérine)

La Strychnine antagoniste à 1 p. 500.000

E : Esérine à 1 p. 500.000 (9 min.)
A : Acétylcholine à 1 p. 40.000.000 (3 min.)
S : Strychnine à 1 p. 500.000 (6 min.)
L : Lavages

Et nous avons, d'autre part, des substances primitivement favorisantes : prostigmine, héroïne, morphine, bleu de méthylène et qui deviennent antagonistes après ésérine,

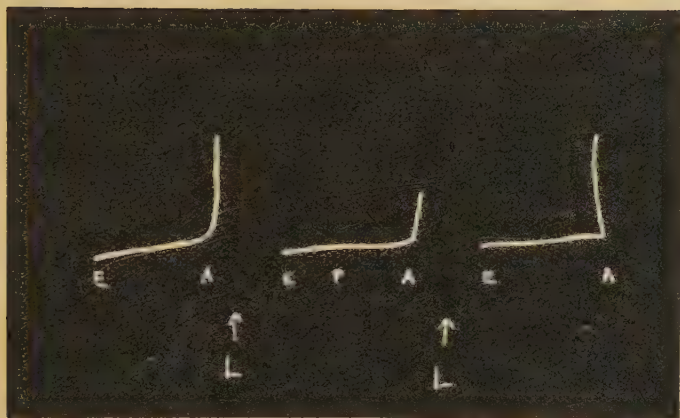


FIG. 8. — Muscle de Sangsue énervé et ésériné
(Droque après ésérine)

La Prostigmine antagoniste à 1 p. 10.000.000

E : Ésérine à 1 p. 500.000 (9 min.)

A : Acétylcholine à 1 p. 40.000.000 (3 min.)

P : Prostigmine à 1 p. 10.000.000 (6 min.)

L : Lavages

Les concentrations actives sans et après ésérine sont respectivement les suivantes : prostigmine, 1 p. 15.000.000 et 1 p. 10.000.000 ; héroïne, 1 p. 1.000 et 1 p. 500.000 ; morphine, 1 p. 500.000 et 1 p. 100.000 ; bleu de méthylène 1 p. 500.000 et 1 p. 10.000.

Conclusions

Le plus grand nombre de substances étudiées (même celles qui modifient la sensibilité de la préparation vis-à-vis de l'acétylcholine) deviennent inactives

lorsque, toutes conditions restant égales par ailleurs, elles sont ajoutées après ésérine.

Trois substances cependant restent favorisantes : choline, rouge neutre, histamine. Trois restent également antagonistes : strychnine, caféine et phénosafra-
nine. Enfin, quatre autres : prostigmine, héroïne, morphine et bleu de méthylène qui étaient favorisantes deviennent antagonistes.

Cette inversion d'action n'est donc pas spéciale aux alcaloïdes dérivés de la morphine, chez lesquels elle avait été bien étudiée par DASTUGUE et BRESSON (1939), elle s'étend encore à la prostigmine (ester de l'acide diméthylcarbamique et du m-oxyphényltriméthylammoniumméthylsulfate) et au bleu de méthylène (chlorure de tétraméthylthionine).

Remarquons enfin, que, dans trois cas (prostigmine, morphine et bleu de méthylène) il faut, pour que se manifeste le pouvoir antagoniste après ésérine, atteindre une concentration plus élevée que celle qui est favorisante en l'absence d'ésérine. Il en est d'ailleurs de même pour tous les alcaloïdes dérivés de la morphine (DASTUGUE et BRESSON). Seule l'héroïne présente un pouvoir antagoniste pour des doses beaucoup plus faibles que celles nécessaires à l'exercice de son pouvoir favorisant (sans ésérine).

CHAPITRE III

ACTION SENSIBILISANTE SUR UNE PRÉPARATION ÉSÉRINÉE (addition *avant* ésérine)

L'action antagoniste que manifestent les alcaloïdes dérivés de la morphine (bien qu'ils soient favorisants sur une préparation non ésérinée) quand on les fait agir *après ésérine* n'est donc pas limitée à ce groupe de substances mais s'étend à d'autres drogues favorisantes comme la prostigmine et le bleu de méthylène.

Il s'agit maintenant de savoir ce que devient cette action antagoniste quand la drogue est ajoutée *avant ésérine*.

Technique. — L'ésérine à 1 p. 500.000 est ajoutée au Ringer où baigne la sangsue réactif trois minutes après l'addition de la drogue étudiée. L'acétylcholine (1 p. 40.000.000) est ajoutée à son tour trois minutes après l'addition de la drogue étudiée. Les étalonnages sont pratiqués en ajoutant l'acétylcholine trois minutes après l'ésérine. De la sorte, la classification ci-dessous nous paraît pouvoir être légitimement comparée aux deux précédentes ; dans les trois cas, l'addition de la drogue ayant toujours précédé de six minutes l'acétylcholine.

TABLEAU III

PRÉPARATIONS ÉSÉRINÉES (Droque additionnée avant ésérine)

SUBSTANCES FAVORISANTES		SUBSTANCES INACTIVES		SUBSTANCES ANTAGONISTES	
	Concentrations		Concentrations		Concentrations
Chl. de Pilocarpine ...	1 p.	Sulfate de Vétratrine ..	1 p.	(Prosligmine	1 p.
	10.000	Nicotine	1 p.	Sulf. de Strychnine	10.000.000
		Salicyl. de Génésérine..	1 p.	Chl. d'Héroïne	1 p.
		Formaldéhyde	1 p.	Chl. de Morphine	500.000
		Sulf. de Quinine	1 p.	Caféine	250.000
		Chl. de Choline	1 p.	Phénosafranine	100.000
		Sulf. de Spartéine	1 p.	Vitamine B ₁	40.000
		Novarsénobenzol	1 p.	Bleu de Méthylène	10.000
		Rouge neutre	1 p.	Thionine	5.000
		Chlorure de Potassium	1 p.	Chlorure de Calcium ..	1 p.
		Dihydrocodénone	1 p.		
		Dihydroxyacétaldénone ..	1 p.		
		Fluorure de Sodium ...	1 p.		
		Bichl. d'Histamine	1 p.		
		Ureformine	1 p.		
		Uréthane	1 p.		
		Pentaméthylène-tétrazol.	1 p.		
		Chlorure de Magnésium	1 p.		
		Cholécine	1 p.		
		Chlorure de Sodium ..	8,5 p.		
			1.000		

Discussion. — *Les substances favorisantes* sont dans le cas présent excessivement réduites. La choline, le rouge neutre et l'histamine, substances favorisantes en l'absence d'ésérine et qui avaient conservé ce pouvoir après ésérine le perdent avant ésérine et passent dans la catégorie des substances inactives. Par contre, la pilocarpine semble faire exception, puisque inactive après ésérine, elle passe dans la catégorie favorisante avant ésérine. Mais cette exception est peut être plus apparente que réelle, car, si la pilocarpine a pu être essayée à 1 p. 10.000 avant ésérine, on ne saurait, après ésérine, dépasser une concentration de 1 p. 20.000, l'alcaloïde agissant alors directement sur le tonus du muscle.

Les substances inactives voient leur nombre augmenter par l'apport de la choline, du rouge neutre et de l'histamine qui étaient rangés sous l'étiquette favorisante après ésérine. Par contre, la vitamine B₁, la thionine et le chlorure de calcium inactifs après ésérine, deviennent inhibiteurs.

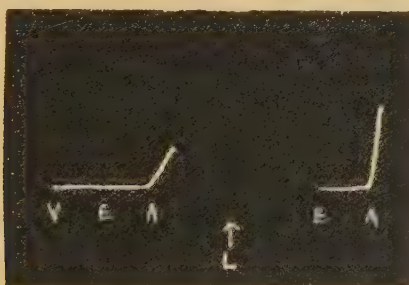


FIG. 9. — Muscle de Sangsue énervé et ésériné
(Drogue avant ésérine)

La Vitamine B₁ antagoniste à 1 p. 40.000

V : Vitamine B₁ à 1 p. 40.000 (6 min.)
E : Ésérine à 1 p. 500.000 (3 min.)
A : Acétylcholine à 1 p. 40.000.000 (3 min.)
L : Lavages

Les substances antagonistes sont donc plus nombreuses dans le tableau III que dans le tableau II, et de plus, le seuil de la concentration active a, dans l'ensemble, nettement diminué : héroïne et strychnine de 1 p. 500.000 à 1 . 1.000.000 morphine de 1. p. 100.000 à 1 p. 500.000 ; caféine de 1. p. 100.000 à 1 p. 250.000 ; phénosafranine de 1 p. 50.000 à 1 p. 100.000.

Bien que les conditions ne soient pas exactement comparables, nous rappellerons que OURY (1937) a signalé une action favorisante de la caféine sur le muscle abdominal droit de grenouille vis-à-vis de l'acétylcholine :

1° Sur une préparation non ésérinée (comme nous l'avons indiqué dans le chapitre I),

2° Sur une préparation ésérinée — caféine avant ésérine « Dans deux expériences, l'ésérine ajoutée au Ringer caféiné a fait encore progresser la sensibilisation obtenue ».

Quoiqu'il en soit de ce cas particulier, en passant du tableau II au tableau III on assiste à un véritable glissement de gauche à droite, manifesté soit par un changement de catégorie (substances favorisantes devenant inactives ; substances inactives devenant antagonistes), soit par un changement de concentration (antagonisme déjà établi devenant manifeste à des doses beaucoup plus faibles).

En résumé, les substances que nous avons examinées ont un pouvoir antagoniste plus fort si elles sont ajoutées avant ésérine que si elles sont ajoutées après, toutes conditions étant égales par ailleurs. Cette constatation aurait pu, semble-t-il, être prévue *a priori*, la substance antagoniste étant susceptible d'imprégner plus facilement le muscle quand elle est ajoutée avant ésérine. Mais cette explication, si elle s'applique aux drogues qui sont déjà antagonistes, en l'absence d'ésérine (strych-

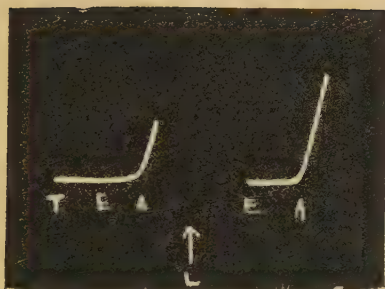


FIG. 10. — Muscle de Sangsue énuervé et ésériné
(Droque avant ésérine)

La Thionine antagoniste à 1 p. 5.000

T : Thionine à 1 p. 5.000 (6 min.)

E : Ésérine à 1 p. 500.000 (3 min.)

A : Acétylcholine à 1 p. 40.000.000 (3 min.)

L : Lavages

nine, caféine) ne saurait s'étendre à celles qui sont au contraire favorisantes dans ces dernières conditions. Et il est évidemment assez difficile d'expliquer comment l'héroïne et la morphine favorisantes en l'absence d'ésérine et antagonistes après ésérine acquièrent un pouvoir inhibiteur encore plus fort quand elles sont ajoutées avant ésérine.

Nous abordons évidemment ici, un problème excessivement complexe puisqu'il s'agit non seulement d'antagonisme simple, mais d'un problème d'antagonisme où trois substances au moins entrent en jeu.

Nous ne discuterons pas la question de savoir s'il s'agit d'antagonisme vrai où les substances en cause agissent sur les mêmes éléments anatomiques ou s'il s'agit simplement d'antagonisme apparent. Nous tenons simplement à distinguer, dans le cas présent, l'action des antagonistes que nous appellerons permanents (type

strychnine) et celle des antagonistes que nous appellerons accidentels (type héroïne). Les *antagonistes permanents* (strychnine, caféine, phénosafranine) sont antagonistes vis-à-vis de l'acétylcholine sur une préparation

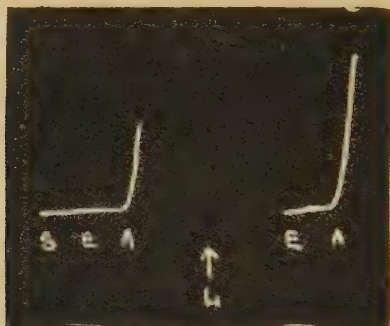


FIG. 11. — Muscle de Sangsue dénérvé et ésériné
(Droque avant ésérine)

La Strychnine antagoniste à 1 p. 1.000.000

S : Strychnine à 1 p. 1.000.000 (6 min.)

E : Esérine à 1 p. 500.000 (3 min.)

A : Acétylcholine à 1 p. 40.000.000 (3 min.)

L : Lavages

non ésérinée. Ils le sont encore si on les fait agir avant ou après ésérine, bien qu'il soit alors nécessaire d'augmenter considérablement la dose. Les *antagonistes accidentels* (prostigmine, héroïne, morphine, bleu de méthylène) sont des substances pourvues d'une influence favorisante vis-à-vis de l'acétylcholine quand elles agissent sur une préparation non ésérinée, elles ne deviennent antagonistes que si on les fait agir sur une préparation ésérinée et leur pouvoir antagoniste est plus fort quand elles sont ajoutées avant ésérine que lorsqu'elles sont ajoutées après.



FIG. 12. — Muscle de Sangsue énérvé et ésériné
(Droque avant ésérine)

La Prostigmine antagoniste à 1 p. 10.000.000

P : Prostigmine à 1 p. 10.000.000 (6 min.)

E : Ésérine à 1 p. 500.000 (3 min.)

A : Acétylcholine à 1 p. 40.000.000 (3 min.)

L : Lavages

Il n'y a pas de rapport simple entre la dose favorisante et la dose inhibitrice : la prostigmine favorisante à 1 p. 15.000.000 devient après ésérine inhibitrice à 1 p. 10.000.000 et également 1 p. 10.000.000 avant ésérine. Les mêmes valeurs sont respectivement pour la morphine 1 p. 500.000, 1 p. 100.000 et 1 p. 500.000 ; pour l'héroïne 1 p. 1.000, 1 p. 500.000 et 1 p. 1.000.000 ; pour le bleu de méthylène 1 p. 500.000, 1 p. 10.000 et 1 p. 10.000.

Conclusions

Certaines substances favorisantes sur une préparation non ésérinée deviennent, comme nous l'avons souligné dans le chapitre précédent, inhibitrices, quand elles sont additionnées après ésérine. Ces substances possèdent cette particularité de devenir inhibitrices, non seulement lorsqu'elles sont additionnées après ésérine mais aussi avant ésérine. Et nous notons, d'une façon générale, que le fait d'administrer les drogues étudiées en présence d'ésérine leur donne un pouvoir inhibiteur : une substance favorisante devient inactive ; une autre inactive devient inhibitrice ; une troisième, enfin, antagoniste à une certaine concentration persiste antagoniste même à une concentration inférieure.

La différence entre l'action d'une drogue suivant qu'elle est ajoutée avant ésérine ou après ésérine réside dans le renforcement de ce pouvoir inhibiteur.

C'est ainsi que la choline, le rouge neutre et l'histamine qui étaient restés favorisants après ésérine passent ici (avant ésérine) dans la catégorie des substances inactives. Dans le même sens, la morphine, inhibitrice après ésérine à la concentration de 1 p. 100.000, est inhibitrice avant ésérine à une concentration cinq fois plus faible. De même, on note un abaissement de la concentration capable de produire le même effet inhibiteur, pour la strychnine, l'héroïne, la caféine et la phénosafrafranine.

Voici, pour finir, un exemple démonstratif qui fait ressortir les effets différents d'une même drogue suivant les conditions de son action : la thionine est favorisante en l'absence d'ésérine (1 p. 50.000), inactive après ésérine

(1 p. 5.000) et devient, à la même concentration, inhibitrice avant ésérine :

	SANS ÉSÉRINE	APRÈS ÉSÉRINE	AVANT ÉSÉRINE
Action favorisante	Thionine		
Action nulle		Thionine	
Action inhibitrice			Thionine

Le mécanisme de cette inversion d'action aussi bien que celui de l'antagonisme lui-même, sont encore à élucider.

DEUXIÈME PARTIE

ACTION
ANTICHOLINESTERASIQUE

GÉNÉRALITÉS

LA CHOLINESTÉRASE

On sait qu'il existe dans un très grand nombre de tissus un ferment capable d'hydrolyser l'acétylcholine. DALE, le premier, en 1914, suggéra l'intervention d'une action fermentaire pour expliquer la destruction de l'acétylcholine dans les tissus. *In vivo*, HUNT (1915) avait remarqué la disparition rapide de l'acétylcholine injectée dans le torrent circulatoire. LOEWI et NAVRATIL (1926), ENGELHARDT et LOEWI (1930) démontrèrent plus tard la réalité de ce mécanisme enzymatique ; *in vitro*, ils virent les tissus de grenouille, le sérum, inactiver très vite l'acétylcholine, tandis que J. CLARK (1926) établissait la courbe d'action des ferments. De plus, les auteurs précédents montrèrent que, le chauffage à 56° effectué préalablement, l'irradiation ultra-violette détruisaient son activité, de même que l'addition d'ésérine ou d'ergotamine. Ces données fondamentales furent encore complétées par de nombreux auteurs PLATTNER et GALEHR (1928), PLATTNER et HINTNER (1930), MATTHES (1930), STEDMAN (1931), AMMON (1933), AMMON et VOSS (1935).

STEDMAN et EASSON (1932) étudiant le phénomène

du point de vue chimique ont extrait la cholinestérase (DALE) du sang de cheval et montré qu'il s'agissait d'une estérase spécifique distincte, d'une part, de la lipase, d'autre part, des estérases agissant sur la tributyrine ou le butyrate de méthyle.

D'un autre côté, la réaction inverse (re-synthèse de l'acétylcholine par la cholinestérase) était démontrée dans une certaine mesure par ABDERHALDEN et PAFFRATH (1925), puis par AMMON et KWIATKOWSKI (1934).

E. KAHANE et J. LÉVY (année 1936 et suivantes) étudièrent l'activité cholinestérasique de divers tissus et découvrirent de nombreux inhibiteurs. BACQ (1935), GAUTRELET et son Ecole (année 35 et suivantes), JULLIEN et ses collaborateurs étendirent ces recherches aux invertébrés, tandis que NACHMANSOHN (1938), MARNAY (1937) démontraient l'intensité élective de cette action enzymatique dans le système nerveux central et dans les terminaisons nerveuses musculaires.

C'est qu'en effet, l'activité destructrice des tissus, pour le même animal et surtout dans les différentes espèces, est très variable. Voici, à titre d'exemple, quelques chiffres obtenus par GAUTRELET, HALPERN et CORTEGGIANI sur le test de la sangsue éserinée :

Animal	Organe étudié	Durée de contractilité	Destruction
Cobaye	foie	23 m.	90 p. 100
—	intestin	150 sec.	90 —
—	muscle strié	20 sec.	70 —
—	sérum sanguin	30 sec.	95 —
—	—	120 sec.	99 —
Grenouille	muscle strié	5 m.	70 —
—	sérum sanguin	2 sec.	95 —
Escargot	foie	5 sec.	75 —
—	hémolymphe	2 sec.	25 —
—	muscle pédieux	10 sec.	80 —

Par quel mécanisme l'estérase agit-elle sur l'acétylcholine ? En provoquant la scission, c'est-à-dire en libérant le noyau cholinique de la fonction acétylcholinique. Il semble donc qu'il s'agisse d'une hydrolyse assez simple n'atteignant pas le groupe choline, contrairement à ce qu'avaient suggéré VILLARET, JUSTIN-BESANÇON et CACHERA (1930), et n'inactivant pas l'acétylcholine par passage à un état dissimulé (KAHANE, 1936) mais n'excluant pas une re-synthèse (ABDERHALDEN et PAFFRATH, AMMON et KWIATKOWSKI).

LES INHIBITEURS DE LA CHOLINESTÉRASE

Influences physiques. — Le facteur le plus important, de ce point de vue, est le pH du milieu. PLATTNER, GALEHR et KEDERA (1928) en faisaient déjà mention et KAHLSON (1936) y insiste à juste titre. L'acidité inhibe l'effet de la cholinestérase qui n'agit que faiblement à pH 6,2 et plus du tout au-dessous de pH 4,4 (KAHANE). On admet qu'elle reste sensiblement constante entre pH 6,8 et 7,6. Au contraire, son activité augmente dans d'énormes proportions au-dessus de pH 8 ; ce fait est très compréhensible puisque le ferment catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine qui est spontanément rapide en milieu alcalin. D'après BERNHEIM (F) et BERNHEIM (M) (1936), GLICK (1937) son pH optimum d'action se situe à 8,4.

Influences chimiques. — E. KAHANE et J. LÉVY ont donné en 1936 une liste de plusieurs substances sans influence sur la vitesse d'hydrolyse de l'acétylcholine par le sérum (ClNa, ClK, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$, chlorhydrate de bétaine à 10 p. 100, glycérine à 25 p. 100). LOEWI et NAVRATIL (1926) reconnaissent comme substances inhibitrices : l'ésérine et l'ergotamine ; MATTHES (1930) : le

fluorure de sodium et la nicotine ; PLATTNER et HINTNER (1930) : la quinine et l'atoxyl, CORTEGGIANI, GAUTRELET, HALPERN et SERFATI (1936) : l'aldéhyde formique ; BAYER et WENSE (1936) : l'histamine ; TSUSI (1932) : l'adrénaline à forte concentration ; AMMON (1933) : la muscarine, la prostigmine, la tartrate d'ergotamine, la quinine, la pilocarpine et même, à dose assez forte, l'atropine ; E. KAHANE et J. LEVY (1936) : l'ésérine, génésérine, morphine, prostigmine, cyanure de potassium, caféine, métacrésol, orthocrésol, acide oxalique, acide citrique, éphédrine, antipyrine, chlorure de β -méthylcholine, chlorure de calcium, urée, hexaméthylènetétramine, bromure de bromocholine, acétone, alcool ; BERNHEIM (1936), KAHANE et LEVY (1937) : la morphine ; BERNHEIM (1936) : l'apomorphine ; PLATTNER et GALEHR (1928) : l'uréthane et un grand nombre de dérivés synthétiques de l'uréthane, dont l'un, le méta-compound, ou ester métyl-carbamique du hydroxyphényltriméthylammonium iodure, de STEDMAN posséderait un pouvoir anticholinestérasique dix fois plus fort que celui de l'ésérine.

Récemment, NACHMANSOHN (1939) signale l'action anticholinestérasique très forte de la strychnine, celle de la prostigmine, nicotine, pilocarpine, fluorure, quinine.

A. KASWIN a été amené par le fait que l'on trouve parmi les inhibiteurs de la cholinestérase, la neurine, le bromure de triméthylammonium, l'iodure de tétraméthylammonium, le bleu de méthylène, à rechercher s'il y avait une relation entre la propriété anticholinestérasique de ces corps et la présence de la fonction ammonium quaternaire. Il a établi que l'iodométhylation produisait une augmentation notable du pouvoir anticholinestérasique dans le cas de l'adrénaline, de l'atropine et de l'urotropine dont l'action inhibitrice est normalement très faible, augmentation moins importante dans le cas de la spartéine normalement assez active et nulle dans le cas

de la strychnine qui possède une action inhibitrice élevée. Cependant, comme le remarque KASWIN lui-même, si la présence d'une fonction ammonium quaternaire paraît impliquer l'existence, à un degré variable, d'un pouvoir anticholinestérasique, le fait ne saurait donner l'explication du mécanisme d'action des inhibiteurs de la cholinestérase en général ; de nombreux corps agissant comme tels, notamment l'ésérine, ne possèdent pas de groupement ammonium quaternaire.

Discussion. — Le fait que l'acétylcholine est détruite avec une plus ou moins grande intensité par la plupart des tissus et que certaines substances favorisant de l'acétylcholine (notamment l'ésérine) inhibent cette destruction a fait penser, en première approximation, que pouvoir sensibilisant et pouvoir anticholinestérasique étaient parallèles et que le premier était la conséquence du second. Or, les expériences d'un certain nombre d'auteurs, celles de KAHANE et LEVY sur l'hydrolyse de plusieurs esters de la choline par des extraits tissulaires et leur sensibilisation par l'ésérine, celles de DASTUGUE et BRESSON sur la dihydrooxycodéine à pouvoir favorisant intense et pouvoir anticholinestérasique très faible, ont montré que ce parallèle n'existait pas d'une façon constante. Toutefois, il semble que ces recherches ne soient pas capables de trancher la question d'une façon définitive, car l'on peut se demander, *a priori*, s'il est absolument légitime de conclure d'un pouvoir anticholinestérasique, recherché presque constamment vis-à-vis de l'action destructive du sérum de cheval, à ce qui se passe dans le cas particulier de la musculature de sangsue. Nous avons donc pensé qu'il y aurait véritablement intérêt à reprendre d'une façon systématique la détermination du pouvoir anticholinestérasique des substances favorisant l'acétylcholine vis-à-vis du muscle de sangsue sur la propre estérase

de cette même musculature. En définitive, dans les trois chapitres suivants, nous voulons essayer de procéder à trois séries de comparaisons :

1° Comparaison de la classification, obtenue par nous, des substances d'après leur pouvoir sensibilisant à l'acétylcholine sur une préparation de sangsue non éserinée à la classification de ces mêmes substances par rapport à leur pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis du sérum de cheval. Cette dernière classification a été établie par GAUTRELET et SCHEINER dans un travail que nous allons exposer et que nous adopterons tel quel.

2° Comparaison de la classification des mêmes substances d'après leur pouvoir sensibilisant à leur classification par rapport au pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis d'un extrait de muscle de sangsue, pouvoir que nous avons établi nous-mêmes suivant une technique que nous préciserons plus loin.

3° Comparaison entre l'activité cholinestérasique du sérum de cheval et l'activité cholinestérasique des extraits musculaires de sangsue.

CHAPITRE I

ACTION SENSIBILISANTE ET ACTION ANTICHOLINESTERASIQUE VIS-A-VIS DU SÉRUM DE CHEVAL

Technique. — Nous avons déjà décrit, dans le chapitre I, le procédé que nous avons employé pour classer une quarantaine de substances suivant leur action sensibilisante vis-à-vis de l'acétylcholine sur un muscle de sangsue non ésériné ; il nous reste à décrire la technique employée par GAUTRÉLET et SCHEINER pour établir le pouvoir anticholinestérasique de ces substances vis-à-vis du sérum de cheval. La méthode préconisée tout d'abord par SCHEINER repose sur le principe suivant :

Il existe une différence fondamentale (TIFFENEAU et SCHEINER) entre le muscle lisse et le muscle strié en ce qui concerne leur comportement définitif sous l'action de l'acétylcholine. Avec le muscle lisse l'effet pharmacodynamique cesse peu à peu malgré le taux inchangé de l'acétylcholine dans le milieu environnant. Avec le mus-

cle strié et particulièrement le muscle droit de l'abdomen de grenouille la contracture provoquée par ce poison se manifeste tant que celui-ci est présent dans le milieu environnant. Un autre aspect du comportement opposé de ces deux types de musculatures est le fait, qu'après la cessation des effets acétylcholiniques sur le muscle lisse, les concentrations successivement croissantes restent sans action ; par contre, sur le muscle strié les petites doses s'additionnent pour donner une contraction persistante dont l'intensité est égale à celle que provoquerait l'administration d'emblée de la totalité. Si l'on ajoute du sérum contenant la cholinestérase à un bain dans lequel se trouve suspendu le muscle droit de grenouille, on observe, après un temps de latence variable suivant le type cholinestérasique du sérum, une décontraction progressive du muscle. La teneur du bain en acétylcholine, au moment où la contracture est réduite de 50 p. 100 est elle-même diminuée de moitié ; alors que pendant le temps de latence, la teneur du bain en acétylcholine n'a pas varié (dosage sur la sangsue). La vitesse de la décontraction, par conséquent la vitesse de l'hydrolyse estérasique, dépend, dans certaines limites, uniquement de la concentration de l'estérase. La quantité d'acétylcholine n'a pas d'influence sur la vitesse de l'hydrolyse. Il s'ensuit que le temps nécessaire pour obtenir une déconcentration de 50 p. 100 exprime le taux de la cholinestérase dans le liquide.

Le muscle droit de l'abdomen de grenouille est suspendu au levier inscripteur ; on ajoute un volume déterminé de liquide de Ringer, en évitant un liquide fraîchement préparé qui a un pH moins constant et on marque exactement la hauteur de la colonne liquide. Une oxygénation toujours de même intensité est absolument indispensable pour obtenir des résultats constants. Le levier inscripteur est chargé de 1 g. Pour empêcher toute friction on laisse le levier se déplacer devant une échelle

millimétrique, renonçant ainsi à l'inscription du mouvement. Avant de commencer, on explore la sensibilité du muscle pour la dose choisie d'acétylcholine. Le déplacement du levier ne doit pas dépasser 100 millimètres, ni être inférieur à 60 millimètres ; si ces conditions ne sont pas remplies, on modifie le poids du levier pour obtenir un déplacement dont la réduction soit facile à observer. En règle générale, tout muscle qui n'a pas atteint 80 p. 100 de sa contraction maximum, dans les 15 secondes qui suivent l'addition d'acétylcholine est à rejeter. On laisse agir 100 γ d'acétylcholine sur le muscle bien détendu dans un bain de 35 cm³. Après 4 minutes, la contracture peut être considérée comme définitive. A ce moment après avoir noté la hauteur indiquée par le levier, on ajoute 1 cm³ de l'étalon et on met en marche le chronomètre ; quand la descente du levier a atteint 50 p. 100 de l'élévation précédente, on note le temps. On lave le muscle pendant 5 minutes, après le lavage, le bain est de nouveau rempli jusqu'au trait de 35 cm³ et on répète la même opération avec un sérum ou extrait de titre inconnu.

Dans ces conditions, la vitesse de la décontraction du muscle peut traduire l'influence de tous les facteurs qui accélèrent ou retardent l'hydrolyse cholinestérasi-que. Parmi ces derniers, l'influence la plus importante est celle qu'exercent les substances dites anticholinesté-rasiques. Ainsi, toutes les autres conditions restant iden-tiques, une concentration de 0,01 milligr. d'ésérine p. 100 dans le bain suffit pour imposer un retard de 100 p. 100 à la décontraction du muscle. D'autre part, il faut dans les mêmes conditions une concentration de 3,5 milligr. p. 100 de pilocarpine pour imposer un retard analogue.

Après avoir ainsi établi que toutes les substances con-nues comme anticholinestérasi-ques augmentent à un de-gré différent le temps de décontraction du muscle qui tra-duit donc fidèlement le pouvoir anticholinestérasi-que pro-

pré à chaque substance examinée, les auteurs ont été amenés à étudier d'une façon comparative la grandeur de ce pouvoir. Mais au lieu de choisir comme terme de comparaison la concentration minima d'une substance qui produit la suppression totale de l'hydrolyse se traduisant par l'empêchement absolu de la décontraction du muscle, les auteurs ont comparé entre elles des doses qui doublent le temps de décontraction : le procédé de détermination devient ainsi plus rapide, ce qui permet de faire le dosage de plusieurs substances sur la même préparation. Après avoir déterminé le temps de réduction de 50 p. 100 de la hauteur du levier, comme il a été indiqué plus haut, en présence de 2 cm³ de sérum de cheval choisi comme étalon, on lave le muscle pendant quelques minutes, on remplit de nouveau le bain et on ajoute successivement des quantités variables de la substance dont on recherche le pouvoir anticholinestérasique jusqu'à ce que la quantité ajoutée produise un retard de 100 p. 100 du temps de décontraction. Comme terme de comparaison les auteurs ont choisi la dose d'éserine qui double le temps et qui se trouve être dans les conditions précitées de 0,10 à 0,13 γ par 1 cm³. Cette valeur est exprimée par le chiffre 100 et la valeur des autres substances est rapportée à ce chiffre.

Ce procédé de détermination du pouvoir anticholinestérasique n'est applicable évidemment qu'aux substances qui n'ont pas une action propre sur le muscle indicateur de l'hydrolyse ; par conséquent, les substances contracturantes (nicotine, vératrine) les substances curarisantes (curare, sparteine, etc.) et les substances dont l'action est antagoniste de l'acétylcholine sur le muscle de grenouille (strychnine et certains sympatholytiques comme le 933 F et le 883 F) ont du être écartées du dosage.

TABLEAU IV

POUVOIR ANTICHOLINESTÉRASIQUE

vis-à-vis du sérum de cheval

(d'après GAUTRELET et SCHEINER)

Substances anticholinestérasiques	Quantité de la substance en mg	Temps. de décontraction en minutes et secondes	Pouvoir anti- cholinestéras. par rapport à l'ésérine = 100	Remarques
Absente	0	3.20 - 3.50	0	Contrôle précédant chaque dosage
Esérine	0,003	6	100	
Prostigmine	0,003	6.3	100	
Bleu de Méthylène	0,01	6.11	30	
Phénosafranine	0,01	5.5	30	
Rouge neutre	0,01	6.30	30	
Génésérine	0,015	5.30	25	
Sulf. de Quinine	0,1	6.30	3	
Thionine	0,5	6.45	0,6	
Tart. d'Ergotamine ..	1,0	8.41	0,5	
Chl. d'Adréraline	1,0	5.35	0,3	
Chl. de Choline	1,0	5.55	0,3	
Pilocarpine	1,0	6.36	0,3	
Chl. de Morphine	2,0	7.20	0,2	
Fuorure de Sodium ..	2,0	6.50	0,15	
Iodométh. d'Urotropine	3,0	5.30	0,10	
Hectine	5,0	8.6	0,05	
Cortine	1,0	7.3	?	
Uréthane	5,0	3.16	0	
Colchicine	1,0	3.25	0	
Cardiazol	1	3.10	0	
Cacodyl. de Sodium ..	5	3.14	0	
Novarsénbenzol	5	3.17	0	
Chl. de potassium	10	3.39	0	
Chl. de calcium	10	4.9	0	
Oxalate de Sodium ..	10	3.50	0	
Nicotine	0,1	—	—	contraction permanente et hydrolyse complète
Formaldéhyde	10	—	—	id.
Curare	0,5	—	—	suppression de l'effet moteur
Sulf. de Strychnine ..	0,1	—	—	id.
Sulf. de Spartéine	1,0	—	—	id.
933 F	2,1	—	—	id.
883 F	2,0	—	—	id.
Diétyldiphénylurée ...	5,0	—	—	id.

GAUTRELET et SCHEINER soulignent les grands écarts d'activité entre la majeure partie des substances (les alcaloïdes notamment) dont l'action ne se manifeste qu'à une concentration relativement considérable, d'une part, l'ésérine et ses dérivés, d'autre part. Les auteurs attirent également l'attention sur le pouvoir anticholinestérasique marqué de la phénosafranine qui contient un ammonium quaternaire et du bleu de méthylène par rapport à la thionine, dont il est le dérivé tétraméthylé. KASWIN, comme nous l'avons nous-mêmes rappelé plus haut, avait insisté récemment (1939) sur l'action inhibitrice des ammoniums quaternaires vis-à-vis de la cholinestérase.

Discussion. — Si maintenant nous comparons la classification obtenue par GAUTRELET et SCHEINER (classification basée sur le pouvoir anticholinestérasique vis-à-vis du sérum de cheval) à celle que nous avons obtenue (classification basée sur le pouvoir sensibilisateur vis-à-vis d'une préparation de sangsue énervée mais non ésérinée) nous devons faire les remarques suivantes :

Les substances favorisantes : On peut distinguer trois groupes de substances favorisantes par rapport à leur pouvoir anticholinestérasique (mesuré vis-à-vis du sérum de cheval). Dans le premier groupe, nous plaçons celles qui possèdent et un pouvoir favorisant et un pouvoir anticholinestérasique avec une concordance à la fois qualitative et quantitative entre ces deux propriétés. Le second groupe comprend les substances possédant et un pouvoir favorisant et un pouvoir anticholinestérasique mais sans qu'il y ait concordance quantitative entre les deux propriétés. Finalement, dans un troisième groupe, nous plaçons les substances trouvées par la majorité des auteurs et par nous-mêmes favorisantes et qui n'ont cependant aucun pouvoir anticholinestérasique.

1 ^{er} GROUPE	2 ^{me} GROUPE	3 ^{me} GROUPE
Sulfate d'Esérine	Dihydrooxycodéine	Pentaméthylènetétrazol
Prostigmine	Chl. de Morphine	
Salicyl. de Génésérine	Sulf. de Quinine	
Bleu de Méthylène	Chl. de Choline	
Rouge neutre	Thionine	
	Pilocarpine	

Notons, cependant, même dans le premier groupe où il y a certainement, dans l'ensemble, correspondance qualitative et quantitative, que le rouge neutre, par exemple, qui a un pouvoir anticholinestérasique égal à celui de la génésérine et même légèrement supérieur à celui-ci ne possède pourtant qu'un pouvoir favorisant (favorisant à 1 p. 35.000) 42 fois plus faible que celui de la génésérine (favorisant à 1 p. 1.500.000). Dans le second groupe (coexistence du pouvoir favorisant et du pouvoir anticholinestérasique sans qu'il y ait d'équivalence entre ces deux propriétés) on rencontre des substances à fort pouvoir favorisant et à faible pouvoir anticholinestérasique : la morphine (favorisant à 1 p. 500.000, pouvoir anticholinestérasique = 0,2), la thionine (favorisant à 1 p. 50.000 ; pouvoir anticholinestérasique = 0,6). Quant à l'eucodal, substance type du second groupe, il possède un pouvoir anticholinestérasique que l'on peut considérer comme négligeable par rapport à l'intensité de son pouvoir favorisant (DASTUGUE, 1939). Nous n'avons pas dans cette catégorie d'exemple de substances à faible pouvoir favorisant et à fort pouvoir anticholinestérasique. Dans le troisième groupe (pouvoir favorisant incontestable, pouvoir anticholinestérasique nul), nous trouvons le cardiazol dont l'action favorisante a été signalée

par un certain nombre d'auteurs et par nous-mêmes, et qui n'a aucun effet inhibiteur sur la cholinestérase du sérum.

Les substances inactives : Là encore, nous pouvons procéder à un groupement analogue.

1^{er} groupe : équivalence entre les 2 propriétés (pouvoir sensibilisant nul, pouvoir anticholinestérasique nul).

2^e groupe : pouvoir favorisant nul avec pouvoir anticholinestérasique plus ou moins marqué.

1 ^{er} GROUPE	2 ^{me} GROUPE
Chlorure de Sodium Colchicine Uréthane Novarsénobenzol	Fluorure de Sodium

Le chlorure de sodium, la colchicine, l'uréthane et le novarsénobenzol sont inactifs sur le muscle de sangsue ; ils n'ont pas, non plus, de pouvoir anticholinestérasique, sur la liste de GAUTRELET tout au moins, car, d'après PLATTNER et GALEHR (1928), l'uréthane posséderait un certain pouvoir anticholinestérasique.

Notons que le pouvoir anticholinestérasique des fluorures a été souligné par de nombreux auteurs (en particulier KAHLSON et UVNAS) tout en reconnaissant leur inactivité sur le muscle de sangsue vis-à-vis de l'acétylcholine. Dans la liste de GAUTRELET et SCHEINER le fluorure de sodium occupe par son pouvoir anticholinestérasique une place qui suit immédiatement celle de la morphine, alors que ces deux substances sont très éloignées dans notre classification basée sur le pouvoir favorisant (la morphine favorisant à la dose de 1 p.

500.000 ; le fluorure de sodium inactif à la dose de 1 p. 5.000).

Les substances antagonistes dont le pouvoir anticholinestérasique est indiqué dans la liste de GAUTRELET et SCHEINER sont le chlorure de potassium, le chlorure de calcium et la phénosafranine. Les deux premières sont inactives sur l'estérase du sérum de cheval. La phénosafranine, par contre, possède une activité anticholinestérasique intense, puisqu'elle vient avec le bleu de méthylène et le rouge neutre immédiatement après l'ésérine sur la liste de GAUTRELET. Nous avons encore là, dans le cas de la phénosafranine, un exemple de plus sur la non équivalence entre les deux propriétés favorisante et anticholinestérasique (mesurée sur le sérum de cheval).

Faisons remarquer, enfin, que si le pouvoir anticholinestérasique de la strychnine et de la caféine vis-à-vis du sérum de cheval n'a pu être déterminé par la technique de GAUTRELET et SCHEINER, à cause de leur propre action sur la musculature de sangsue, certains auteurs (KAHANE et LEVY pour la caféine ; NACHMANSOHN pour la strychnine) ont signalé pour ces deux substances un pouvoir anticholinestérasique assez prononcé, surtout en ce qui concerne la strychnine. Or, la strychnine et la caféine, d'après nos résultats, non seulement ne possèdent aucun pouvoir favorisant sur le muscle de sangsue mais exercent même, sur celui-ci, une action fortement inhibitrice (à la concentration de 1 p. 3.000.000 pour la strychnine, 1 p. 500.000 pour la caféine).

Ces recherches aboutissent donc aux mêmes résultats que celles déjà faites par certains auteurs. Ainsi KAHANE et LEVY ont constaté pour la génésérine, l'éphédrine, l'antipyrine et la choline le faible coefficient de sensibilisation de ces substances par rapport à celui de l'ésérine à des doses où elles inhibent la cholinestérase

au même degré que cet alcaloïde. De même, si l'on compare la sensibilisation de diverses sortes de muscles par l'ésérine (muscle *rectus abdominalis* et gastrocnémien de grenouille et muscle de sangsue) et leur pouvoir cholinestérasique, on s'aperçoit que le muscle de sangsue, bien qu'étant sensibilisé mille fois plus que les autres tests, possède seulement un pouvoir cholinestérasique 20 à 30 fois plus faible. Quant au muscle *rectus abdominalis* et au gastrocnémien de grenouille dont les activités cholinestérasiques sont semblables, de ces deux tests, un seul, le *rectus abdominalis* est sensibilisé par l'ésérine. Dans le même ordre d'idées DASTUGUE a montré que l'eucodal qui a un pouvoir potentialisateur intense sur la préparation de sangsue vis-à-vis de l'acétylcholine est cependant inactif sur d'autres tests biologiques que le muscle de sangsue (muscle grand droit de grenouille, cœur isolé de *Helix pomatia*, intestin isolé de lapin, tension artérielle). Par contre, BACQ et BROWN (1937) ont observé pour cinq substances, parmi lesquelles 4 uréthanes, une augmentation de la réponse du muscle de mammifère à une stimulation nerveuse proportionnelle à leur action anticholinestérasique, *in vitro*.

Conclusions

En résumé, s'il y a un certain nombre de substances pour lesquelles le pouvoir favorisant et le pouvoir anticholinestérasique (vis-à-vis du sérum de cheval) vont de pair, il y en a beaucoup d'autres pour lesquelles il n'existe pas d'équivalence entre ces deux propriétés. D'une part, il existe des substances à fort pouvoir sensi-

bilisant et à faible pouvoir anticholinestérasique (type eucodal) et d'autre part, des substances à fort pouvoir anticholinestérasique et à pouvoir sensibilisateur nul ou même inversé (phénosafranine, caféine, strychnine).

Tous ces faits sont d'une interprétation d'autant plus délicate que l'on pouvait se demander jusqu'ici, s'il était bien légitime de proposer une explication identique pour des sensibilisations qui n'étaient véritablement pas du même ordre de grandeur (Le bleu de méthylène, par exemple, a un pouvoir favorisant à la concentration de 1 p. 500.000 ; l'ésérine à la même concentration a un pouvoir 200 fois supérieur). Cette difficulté ne peut plus être invoquée puisque nous connaissons à présent au moins deux substances produisant à la même concentration que l'ésérine une sensibilisation aussi accentuée (dicodid, eucodal). Or, précisément ces drogues qui ont, nous le répétons, un pouvoir favorisant aussi élevé que celui de l'ésérine possèdent un pouvoir anticholinestérasique très différent, et en particulier celui de l'eucodal est bien inférieur à celui de l'ésérine. Il apparaît donc clairement que, dans le cas le plus favorable à une comparaison légitime, il n'existe pas d'équivalence entre le pouvoir favorisant et le pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis du sérum de cheval.



CHAPITRE II

ACTION SENSIBILISANTE ET ACTION ANTICHOLINESTÉRASIQUE VIS-A-VIS D'UN EXTRAIT DE SANGSUE

Nous nous sommes demandés si les discordances manifestes qui existent, comme nous venons de le souligner, entre le pouvoir sensibilisateur d'une drogue et son pouvoir anticholinestérasique devaient faire irrémédiablement renoncer à expliquer le pouvoir favorisant d'une drogue par la protection que celle-ci exerce contre l'action destructive de l'estérase vis-à-vis de l'acétylcholine. Toutefois, avant de donner une conclusion de ce genre, il nous a semblé que l'on pouvait poser la question de savoir s'il était bien légitime de comparer l'action favorisante dans le cas particulier de la musculature de sangsue au pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis de l'estérase du sérum de cheval. C'est pourquoi, il nous a paru intéressant de reprendre cette comparaison

après avoir déterminé le pouvoir anticholinestérasique vis-à-vis d'un extrait obtenu à partir du muscle de sangsue.

La cholinestérase du muscle de sangsue. — KAHLSON et UVNAS (1935) ont signalé les premiers, croyons-nous, la présence de la cholinestérase dans le muscle de sangsue. Un peu plus tard, GAUTRELET et son Ecole (1936) ont pu indiquer que le muscle de sangsue finement divisé et broyé détruisait (5 cm³ d'extrait étant en contact avec 1 cm³ d'acétylcholine à 1 p. 10.000) 50 p. 100 d'acétylcholine en 15 secondes, 75 p. 100 en 20 sec., 90 p. 100 en 30 sec. Mais si le pouvoir estérasique du muscle de sangsue est relativement grand lorsque le muscle est broyé, il n'en est pas de même avec le muscle intact. C'est ainsi que si l'on ajoute au bain de Ringer (50 cm³) renfermant le muscle, 10 γ d'acétylcholine, l'on n'obtient après 25 minutes qu'une destruction de 50 p. 100 de cette substance. Ce fait a été vérifié par E. KAHANE et J. LEVY (1937) et ces auteurs admettent que ce n'est pas en protégeant l'acétylcholine du bain contre l'estérase susceptible de diffuser du muscle de sangsue que se manifeste l'action de l'ésérine, mais en inhibant *les estérases tissulaires* et en permettant à l'acétylcholine d'atteindre, à une concentration suffisante, les cellules sensibles.

Technique. — La technique mise au point par GAUTRELET et SCHEINER, pouvant servir à déterminer l'action estérasique d'un extrait tissulaire quelconque, aurait du être utilisée ici de préférence, si, malheureusement, les circonstances ne nous avaient mis dans l'impossibilité de nous procurer en quantité suffisante le test biologique employé par les auteurs (muscle de grenouille). Nous avons utilisé à défaut une autre technique également biologique, inspirée d'une méthode

mise au point par GAUTRELET lui-même (mais dans le cas du sérum de cheval).

Principe : Une certaine quantité d'acétylcholine est mise au contact d'un extrait aqueux de sangsue, au bout d'un temps donné l'activité hydrolysante de l'extrait est arrêtée par addition d'ésérine et la quantité d'acétylcholine restant est dosée sur une préparation de sangsue ésérinée.

Préparation de l'extrait : On divise finement le muscle, on le broie et on y ajoute 20 cm³ de Ringer (même volume que le Ringer dans lequel baigne le muscle qui servira au dosage), on attend 5 à 6 heures (conservation à la glacière), on filtre, on centrifuge et on opère sur le liquide ainsi obtenu quand il est revenu à la température du laboratoire.

Les auteurs qui ont obtenu comme nous une destruction de l'acétylcholine par cet extrait en ont déduit naturellement la présence dans celui-ci d'une diastase, et de façon plus précise, d'une cholinestérase analogue ou même identique à celle qui a été mise en évidence dans le sérum de cheval. Mais comme dans l'ensemble, cette estérase de sangsue a été beaucoup moins étudiée que celle du sérum de cheval, il nous a paru préférable de nous assurer dans la mesure où il nous était matériellement possible de le faire, que l'action destructrice de l'acétylcholine était bien due à une activité diastatique. Nous avons cru pouvoir donner sinon un argument décisif, du moins une forte présomption dans ce sens, en portant l'extrait de sangsue obtenu comme il est indiqué ci-dessus à la température de 56° pendant 20 minutes. Cet extrait, ramené à la température du laboratoire, a perdu toute activité cholinestérasique, l'acétylcholine ajoutée à cet extrait en l'absence de toute autre substance est restée intacte.

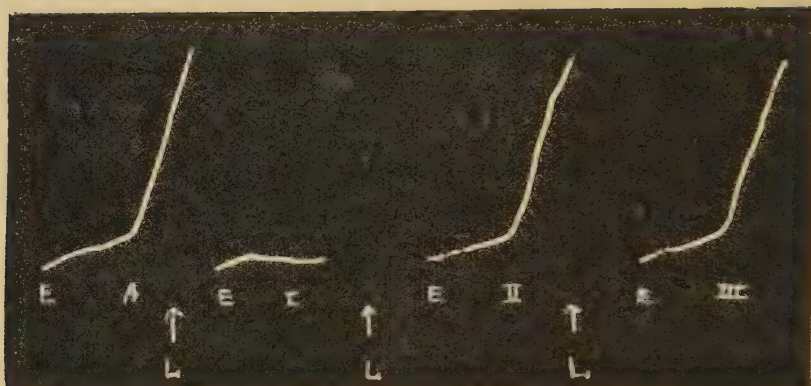


FIG. 13. — Muscle de Sangsue énervé et ésériné

L'extrait musculaire de sangsue porté à 56° perd son activité cholinestérasique

E : Ésérine à 1 p. 400.000

A : Acétylcholine à 1 p. 40.000.000

I : Extrait musculaire de sangsue, additionné d'acétylcholine (3 min.)

II : Extrait musculaire de sangsue porté à 56° pendant 20 min., additionné d'acétylcholine.

III : Extrait musculaire de sangsue ésériné, additionné d'acétylcholine

L : Lavages

L'activité anticholinestérasique de cet extrait est déterminée de la façon suivante :

Dans un premier tube, on met 2 cm³ d'extrait et on y ajoute 1 cm³ d'acétylcholine à 1 p. 10.000. Quinze minutes plus tard, on arrête l'action destructive de l'extrait sur l'acétylcholine par addition de 7 cm³ d'ésérine à 1 p. 20.000.

Dans un deuxième tube, on met 2 cm³ de ce même extrait et on ajoute à une concentration donnée, la substance dont on veut déterminer l'action anticholinestérasique. L'estérase de l'extrait de sangsue reste ainsi soumise à l'action de la drogue étudiée pendant 10 minutes puis on ajoute 1 cm³ d'acétylcholine à 1 p. 10.000. On attend 15 minutes et on bloque l'action cholinestérasique de l'extrait par l'addition comme dans le premier tube de 7 cm³ d'ésérine à 1 p. 20.000.

Enfin, dans un troisième tube, nous obtenons une préparation qui nous indiquera la marche du phénomène quand l'extrait est additionné d'une substance anticholinestérasique dont le pouvoir protecteur très élevé et déterminé, au préalable, peut être considéré comme total.

Dans ce troisième tube, nous mettons donc : 1° 2 cm³ du même extrait qui a servi pour les tubes 1 et 2 ; 2° la substance à très fort pouvoir anticholinestérasique (nous avons toujours employé l'ésérine à 1 p. 20.000) ; 3° 10 minutes après l'addition de l'ésérine à 1 p. 10.000, on ajoute comme dans les deux premiers tubes 7 cm³ d'ésérine à 1 p. 20.000.

Nous dosons la quantité d'acétylcholine restant dans chacun de ces trois tubes, sur le muscle réactif après l'avoir étalonné (l'étalonnage correspond à la réponse d'un muscle ésériné à l'addition de l'acétylcholine à 1 p. 40.000.000). Lorsque le muscle ne donne aucune réponse, nous admettons que la totalité de l'acétylcholine a été détruite (résultat toujours obtenu avec le liquide du premier tube) ; de même, nous admettons que la protection de l'acétylcholine est totale si la réponse est analogue à celle de l'étalonnage (résultat toujours obtenu avec le liquide du troisième tube). Avec le liquide du second tube on obtient généralement des réponses intermédiaires (les concentrations en acétylcholine sont calculées de telle sorte que, si l'acétylcholine ajoutée à l'extrait est entièrement protégée, la concentration est de 1 p. 40.000.000 au contact de la sangsue réactif, concentration qui a servi à l'étalonnage). Nous calculons la fraction d'acétylcholine protégée par la comparaison de cette courbe avec l'étalon ; nous admettons que 50 p. 100 d'acétylcholine totale sont protégés si la réponse est deux fois plus faible.

Chaque expérience comprend donc les quatre élé-

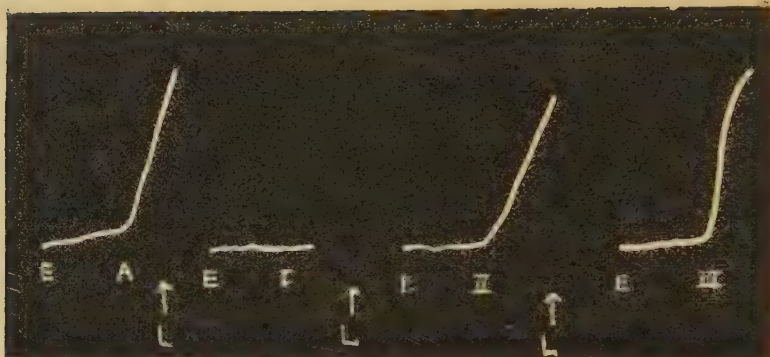


FIG. 14. — Muscle de Sangsue dénervé et éseriné

E : Esérine à 1 p. 400.000

A : Acétylcholine à 1 p. 40.000.000

I : Extrait musculaire de sangsue, additionné d'acétylcholine

II : Extrait musculaire de sangsue + **Dicodid** (à 1 p. 5.000.000), additionné d'acétylcholine

III : Extrait musculaire de sangsue **éseriné**, additionné d'acétylcholine

L : Lavages

ments que nous avons cités : 1° étalonnage de la sangsue réactif ; 2° action sur cette sangsue d'un extrait témoin, c'est-à-dire additionné d'acétylcholine en l'absence de toute autre substance chimique (destruction totale) ; 3° action d'un extrait additionné de la substance dont on recherche le pouvoir anticholinestérasique ; 4° action d'un extrait éseriné (protection totale).

Notre méthode se trouve en défaut dans deux cas : 1° dans le cas des drogues actives par elles-mêmes sur le tonus de la préparation ; 2° dans le cas des drogues antagonistes après éserine. Mais les doses actives ayant été déterminées, au préalable (voir 1^{re} partie de ce mémoire), il nous a été facile de rester à des concentrations inférieures.

Dans le tableau suivant, nous donnons une classification des substances étudiées par rapport à l'intensité de leur pouvoir anticholinestérasique vis-à-vis d'un extrait de sangsue.

TABLEAU V

POUVOIR ANTICHOLINESTERASIQUE
vis-à-vis d'un extrait de sangsue

Substances	Concentrations	Acétylcholine protégée
Prostigmine	1 p. 15.000.000	100 p. 100
Sulfate d'Esérine	1 p. 15.000.000 1 p. 5.000.000	30 p. 100 100 p. 100
Dihydrocodéinone	1 p. 100.000.000 1 p. 5.000.000	traces 90 p. 100
Dihydrooxycodéinone ..	1 p. 1.000.000 1 p. 100.000	néant 100 p. 100
Salicyl. de Gènesérine.	1 p. 1.500.000 1 p. 20.000	néant 100 p. 100
Bleu de Méthylène ..	1 p. 500.000 1 p. 20.000	30 p. 100 100 p. 100
Phénosafranine	1 p. 500.000 1 p. 20.000	néant 30 p. 100
Triblennine	1 p. 50.000 1 p. 20.000 1 p. 5.000	néant traces 90 p. 100
Fluorure de Sodium ..	1 p. 20.000 1 p. 5.000	néant 75 p. 100
Chl. de Choline	1 p. 100.000 1 p. 20.000	néant traces
sulf. de Strychnine ..	1 p. 75.000	néant
Caléine	1 p. 50.000 1 p. 15.000	
Vitamine B ₁	1 p. 100.000 1 p. 10.000 1 p. 1.000	
Uroformine	1 p. 1.000	

Doses favorisantes et doses anticholinestérasiques efficaces. — Si nous comparons, pour une même substance, la concentration sensibilisant le muscle de sangsue vis-à-vis de l'acétylcholine à la concentration nécessaire pour exercer une action anticholinestérasique efficace (vis-à-vis de l'extrait de sangsue), nous trouvons, pour la presque totalité des substances étudiées, que la première est bien inférieure à la seconde. L'ésérine et la dihydrocodeinone sensibilisent le muscle de sangsue à l'acétylcholine à la concentration de 1 p. 100.000.000 ; leur action anticholinestérasique ne se manifeste cependant qu'à partir de la concentration de 1 p. 15.000.000. Pour la dihydrooxycodéinone, l'écart entre les deux concentrations est encore plus prononcé : favorisant à 1 p. 100.000.000, elle n'a d'action anticholinestérasique appréciable qu'à la concentration de 1 p. 500.000. Il en est de même pour la gènesérine, la thionine et la choline qui n'exercent aucune activité anticholinestérasique aux concentrations actives sur le muscle de sangsue. Notons cependant que le bleu de méthylène favorisant à la concentration de 1 p. 500.000 exerce à la même concentration une action anticholinestérasique assez marquée et que la prostigmine favorisant à 1 p. 15.000.000 protège totalement, à cette même concentration, l'acétylcholine contre l'action destructive de l'extrait de sangsue.

Discussion. — Nous pouvons procéder ici pour comparer le pouvoir sensibilisateur au pouvoir anticholinestérasique vis-à-vis d'un extrait de muscle de sangsue de la même façon que dans le chapitre précédent. Les trois groupes que nous avons distingués sont :

1° Substances où l'on trouve une certaine équivalence à la fois qualitative et quantitative ;

Nous pouvons tirer de l'absence de toute substance dans le troisième groupe un renseignement important : Nous ne trouvons aucune substance favorisante qui ne possède d'activité anticholinestérasique vis-à-vis de l'extrait de sangsue. Le deuxième groupe ne comprend que le fluorure de sodium, inactif sur le muscle de sangsue vis-à-vis de l'acétylcholine, mais cependant inhibiteur de l'estérase de l'extrait de sangsue (propriété déjà signalée par KAHLSON et UVNAS) comme il est d'ailleurs inhibiteur de l'estérase du sérum de cheval.

Le premier groupe comprend donc la presque totalité des substances étudiées. Ceci prouve bien que le parallélisme est plus étroit entre le pouvoir favorisant d'une substance et son pouvoir anticholinestérasique lorsque celui-ci est déterminé vis-à-vis d'un extrait de sangsue que lorsqu'il est déterminé vis-à-vis du sérum de cheval. Les substances à fort pouvoir favorisant (ésérine, prostigmine, dicodid, eucodal, génésérine) ont aussi un fort pouvoir anticholinestérasique vis-à-vis de l'extrait de sangsue. La strychnine, la caféine, la vitamine B₁ substances antagonistes ne possèdent aucune activité anticholinestérasique. Notons de même l'absence de toute activité inhibitrice sur l'estérase de notre extrait de l'uroformine, qui est sans action pharmacodynamique sur le muscle de sangsue.

Mais si nous avons noté l'existence d'un parallélisme manifestement plus étroit entre pouvoir favorisant et pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis d'un extrait de sangsue qu'entre pouvoir favorisant et pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis du sérum de cheval, nous devons reconnaître qu'ici non plus, il n'y a pas d'équivalence totale. La comparaison entre les deux listes suivantes montre bien que la classification basée sur le pouvoir pharmacodynamique ne

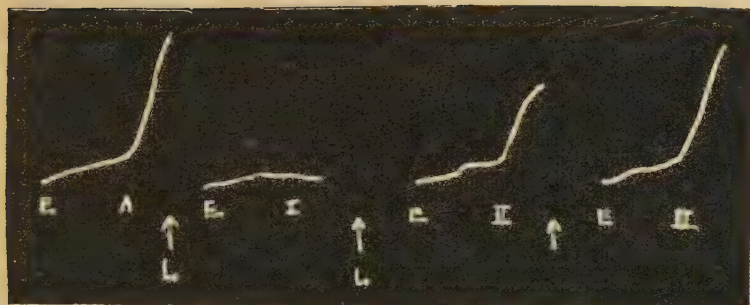


FIG. 16. — Muscle de Sangsue énérvé et ésériné

E : Esérine à 1 p. 400.000

A : Acétylcholine à 1 p. 40.000.000

I : Extrait musculaire de sangsue, additionné d'acétylcholine

II : Extrait musculaire de sangsue + **Fluorure de sodium** (à 1 p. 5.000), additionné d'acétylcholine

III : Extrait musculaire de sangsue **ésériné**, additionné d'acétylcholine

L : Lavages

se confond pas avec celle basée sur le pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis d'un extrait de sangsue.

1^{re} liste : d'après le pouvoir pharmacodynamique,

2^e liste : d'après le pouvoir anticholinestérasique (extrait de sangsue).

1 ^{re} LISTE	2 ^{me} LISTE
1. { Sulfate d'Esérine	1. Prostigmine
2. { Dihydrocodéinone	2. Sulfate d'Esérine
3. { Dihydrooxycodéinone	3. Dihydrocodéinone
4. Prostigmine	4. Dihydrooxycodéinone
5. Génésérine	5. Génésérine
6. Bleu de Méthylène	6. Bleu de Méthylène
7. Chl. de Choline	7. { Chl. de Choline
8. Thionine	8. { Thionine

Il ressort de la comparaison de ces deux listes que les deux classifications ne sont pas superposables. La

prostigmine en particulier qui est 6 fois moins active que l'ésérine possède un pouvoir anticholinestérasique 3 fois supérieur à celui de l'ésérine. La dihydrocodeinone et la dihydrooxycodéinone ont le même pouvoir favorisant et pourtant le pouvoir anticholinestérasique de la première est 40 fois, au moins, supérieur à celui de la seconde. Les autres substances occupent un rang équivalent dans les deux listes

Conclusions

Nous avons déterminé le pouvoir anticholinestérasique de certaines drogues vis-à-vis d'un extrait de sangsue — préparé dans les conditions que nous avons indiquées — afin de pouvoir les classer suivant ce pouvoir, et, par la suite, comparer cette classification à celle que nous avons obtenue de ces mêmes substances dans la première partie de notre travail.

Il nous a été possible de montrer, d'après la classification ainsi obtenue, que l'on était plus près de la réalité lorsqu'on fait aller de pair pouvoir favorisant et pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis du sérum de cheval. Nous avons signalé plusieurs résultats en faveur de cette équivalence entre les deux propriétés (action favorisante et action anticholinestérasique vis-à-vis d'un extrait de sangsue) :

1° L'ésérine, le dicodid, l'eucodal, la prostigmine, la gènesérine substances à pouvoir favorisant élevé possèdent aussi une activité anticholinestérasique intense (extrait de sangsue).

2° La strychnine, la caféine, la vitamine B₁, substances antagonistes de l'acétylcholine sur le muscle de sangsue, ne possèdent aucune action inhibitrice sur l'estérase de l'extrait de sangsue.

3° L'uroformine, inactive sur le muscle de sangsue vis-à-vis de l'acétylcholine, est également inactive sur l'estérase de l'extrait de sangsue.

4° Aucune substance favorisante n'est dépourvue d'une certaine activité anticholinestérasique (extrait de sangsue).

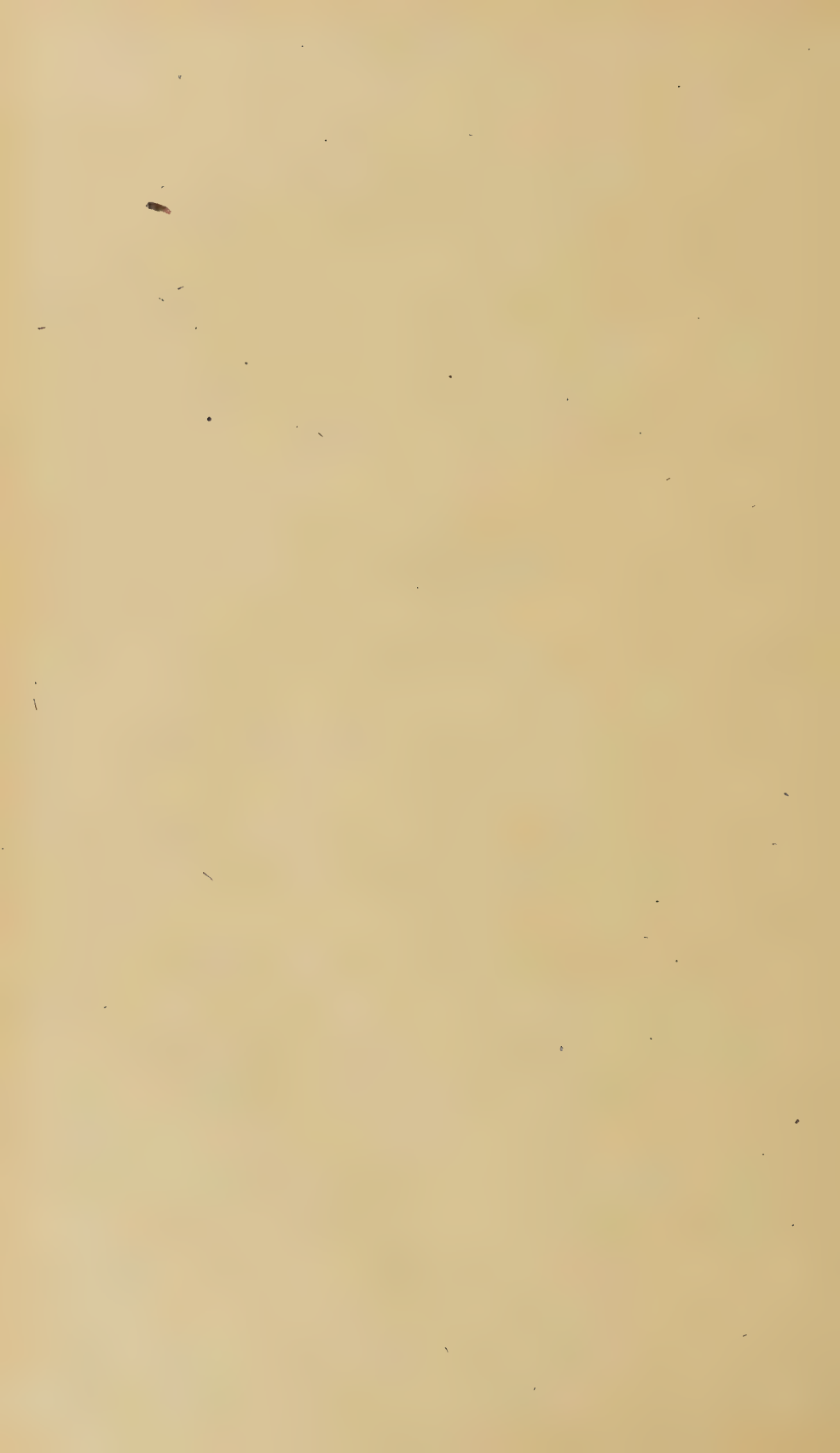
Inversement, certaines constatations sont à l'encontre de la théorie qui fait aller de pair pouvoir favorisant et pouvoir anticholinestérasique, même lorsque celui-ci est déterminé vis-à-vis d'un extrait de sangsue :

1° La prostigmine, 6 fois moins favorisante que l'ésérine, a un pouvoir anticholinestérasique 3 fois supérieur à celui de l'ésérine (extrait de sangsue).

2° Le dicodid et l'eucodal également favorisants ont un pouvoir anticholinestérasique le premier 40 fois supérieur à celui du second.

3° L'eucodal favorisant le muscle de sangsue à l'acétylcholine à la concentration de 1 p. 100.000.000 n'a une activité anticholinestérasique appréciable qu'à une concentration 200 fois plus grande.

Bref, en présence de deux classifications, l'une basée sur le pouvoir favorisant, l'autre sur le pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis d'un extrait de sangsue, nous notons un certain parallélisme entre les deux pouvoirs; mais la concordance, quoique plus étroite que dans le cas où le pouvoir anticholinestérasique est déterminé vis-à-vis du sérum de cheval, est encore loin d'être totale.



CHAPITRE III

ACTIVITÉS CHOLINESTERASIQUES DU SÉRUM DE CHEVAL ET DES EXTRAITS MUSCULAIRES DE SANGSUE

Si la comparaison, faite entre le pouvoir sensibilisant sur le muscle de sangsue non éseriné des substances que nous venons d'étudier et leur pouvoir anticholinestérasique, n'a pas fourni les éclaircissements que nous avions espérés, par contre, elle soulève un certain nombre de difficultés nouvelles : une même drogue peut présenter un pouvoir anticholinestérasique différent, suivant que ce dernier est mesuré dans le cas du sérum de cheval ou dans le cas d'un extrait tissulaire de sangsue. Voici quelques exemples :

La prostigmine qui possède dans le premier cas (sérum de cheval) un pouvoir anticholinestérasique égal à celui de l'éserine a, dans le second cas (extrait de sangsue), un pouvoir anticholinestérasique trois fois plus fort. Pour la génésérine, pouvoir anticholinestérasique 4 fois inférieur à celui de l'éserine dans le cas du sérum de cheval est 100 fois inférieur à celui de l'éserine dans

le cas de la sangsue ; le bleu de méthylène pouvoir anticholinestérasique 3 fois inférieur à celui de l'ésérine dans le cas du sérum de cheval, 250 fois inférieur à celui de l'ésérine dans le second cas ; la phénosafranine et la thionine, qui possèdent un pouvoir anticholinestérasique 3 fois inférieur à celui de l'ésérine dans le cas du sérum, ont un pouvoir 750 fois inférieur dans le cas de l'extrait à celui de l'ésérine ; enfin, le fluorure de sodium a un pouvoir anticholinestérasique 650 fois inférieur à celui de l'ésérine dans le cas du sérum et un pouvoir 1250 fois inférieur à celui de l'ésérine dans le second cas.

Ces différences sur l'activité d'une même substance vis-à-vis d'une estérase dont nous n'avons pas, *a priori*, à mettre en doute l'identité quelle qu'en soit l'origine paraissent assez troublantes. Nous pouvons, cependant, rapprocher de ces résultats d'autres différences obtenues par certains auteurs dans l'appréciation du coefficient d'hydrolyse des esters de la choline par des extraits tissulaires différents, mais également riches en estérase. KAHANE et LEVY ont signalé que certains esters de la choline hydrolysés par l'estérase du muscle de la sangsue (ester bromhydrique et ester nitrique) ne le sont pas par celle du muscle de grenouille ni par celle du sérum. De même l'ester acétique de la β -méthylcholine hydrolysé par l'estérase du sérum de chien et par l'estérase du muscle de sangsue ne l'est pas par l'estérase du muscle de grenouille. « Ceci est d'autant plus remarquable, ajoutent les auteurs, que l'activité estérasique absolue, si on la détermine vis-à-vis de l'acétylcholine, est beaucoup plus intense pour le sérum de cheval que pour les extraits musculaires. ».

Il faudrait donc admettre, sans même qu'il soit nécessaire de poser la question d'une diversité dans la nature de l'estérase, que, chaque fois que l'on aura affaire non pas à une solution de diastase chimiquement pure,

mais à un liquide organique ou à un extrait tissulaire, on pourrait observer dans les deux cas, certaines différences d'ordre secondaire suivant la qualité de ce liquide ou l'origine de l'extrait. De plus, il faut remarquer que la quantité de substance suffisante pour protéger l'acétylcholine de sa destruction par l'estérase du muscle de sangsue est beaucoup plus faible que la quantité nécessaire pour protéger, toutes conditions étant égales par ailleurs, l'acétylcholine contre l'action destructive de l'estérase du sérum.

D'après les renseignements fournis par GAUTRELET et SCHEINER, on peut calculer que, pour empêcher la destruction de 50 p. 100 de la quantité totale d'acétylcholine employée (100 γ) par 2 cm³ de sérum de cheval, il faut employer 3,5 γ d'ésérine. Dans nos expériences, pour empêcher la destruction de toute l'acétylcholine (100 γ) en présence de 2 cm³ d'extrait, il suffit d'employer 0,4 γ d'ésérine. En d'autres termes, pour protéger complètement 100 γ d'acétylcholine contre l'action hydrolysante vis-à-vis de 2 cm³ de sérum de cheval ou d'extrait musculaire de sangsue (tel que nous l'avons obtenu) il faut employer 18 fois plus d'ésérine dans le premier cas que dans le second. Sans doute, en employant des procédés d'extraction plus perfectionnés, pourrai-on arriver à obtenir un extrait musculaire de sangsue dont l'activité cholinestérasique serait plus intense. Mais, par contre, si l'on mesure l'activité estérasique du Ringer dans lequel baigne le muscle de sangsue intact, on trouve un pouvoir beaucoup plus faible. C'est pourquoi d'ailleurs KAHANE et LEVY admettent que ce n'est pas en protégeant l'acétylcholine du bain contre l'estérase susceptible de diffuser du muscle de sangsue que se manifeste l'action anticholinestérasique, mais en inhibant l'estérase tissulaire et en permettant à l'acétylcholine d'atteindre, à une concentration suffisante, les cellules sensibles. Si cette

interprétation est exacte, Il s'agirait alors de savoir si la quantité d'estérase présente dans notre extrait musculaire de sangsue correspondrait simplement à la totalité de l'estérase qui peut diffuser en dehors d'un muscle intact, ou si cet extrait renferme de plus, une partie, ou même la totalité, des estérases tissulaires elles-mêmes. Quoiqu'il en soit, étant donné les objections légitimes que l'on peut soulever contre la théorie qui fait reposer uniquement le pouvoir favorisant sur l'activité anticholinestérasique, on peut se demander si les différences constatées ne proviendraient pas d'une lacune dans la recherche du pouvoir anticholinestérasique. C'est pourquoi, nous avons été amenés à abandonner, pour établir notre comparaison, la classification des substances suivant leur pouvoir anticholinestérasique vis-à-vis du sérum de cheval, pour rechercher une classification analogue vis-à-vis du tissu musculaire de sangsue. Nous avons obtenu, semble-t-il, une atténuation des divergences précédemment constatées, mais celles qui subsistent sont encore assez nettes. Il nous semble, par conséquent, qu'au point où en est la question, les faits ne laissent plus de place qu'aux deux hypothèses suivantes :

Ou bien, nous restons partisans de la théorie qui fait aller de pair le pouvoir favorisant et le pouvoir anticholinestérasique et, dans ces conditions, étant donné les désaccords qui persistent — que le pouvoir antiestérasique soit calculé vis-à-vis du sérum de cheval, ou même vis-à-vis d'un extrait musculaire de sangsue —, il nous faudra admettre que ce pouvoir anticholinestérasique s'exerce vis-à-vis d'une estérase tissulaire qui n'aurait pas diffusé dans nos extraits.

Ou bien, deuxième hypothèse, nous admettons que la totalité des estérases du muscle de sangsue correspond à un ferment très facilement diffusible, présent dans nos extraits, sur lequel nous avons donc bien réellement

expérimenté et dont le pouvoir hydrolysant est relativement faible. Dans ce cas, on pourrait donner de l'action favorisante, les raisons suivantes :

1° La substance favorisante empêche par son pouvoir anticholinestérasique la destruction de l'acétylcholine et permet ainsi à celle-ci d'atteindre à une certaine concentration, les cellules sensibles.

2° La substance favorisante, par une autre propriété, modifierait la réceptivité à l'acétylcholine ou déclencherait un tout autre mécanisme au niveau des cellules musculaires.

On peut interpréter de la sorte, la modalité d'action de deux substances comme l'ésérine et le bleu de méthylène. L'ésérine a un pouvoir anticholinestérasique 3 fois plus grand que celui du bleu de méthylène (sérum de cheval). L'intensité de son pouvoir favorisant est 200 fois plus grande que celle de ce dernier. L'ésérine ne peut donc pas devenir 200 fois plus favorisante que le bleu de méthylène par le seul fait de protéger une quantité d'acétylcholine 3 fois plus grande. Les deux substances ont protégé une quantité suffisante d'acétylcholine pour que celle-ci atteigne les cellules réceptrices et, à ce niveau, elles agiraient grâce, soit à deux propriétés différentes, soit à une propriété commune mais qu'elles ne possèdent pas au même degré (la différence serait alors, ici, comparable à la différence de leur influence sur la réponse du muscle). On pourrait répéter un raisonnement analogue dans le cas de l'ésérine et de la prostigmine. Ces deux substances protègent également l'acétylcholine de la destruction par l'estérase du sérum de cheval. Arrivées au niveau des cellules, l'ésérine et la prostigmine agissent, comme nous l'avons supposé plus haut pour l'ésérine et le bleu de méthylène, soit par une propriété commune qui n'a pas la même intensité dans les deux cas, soit par deux propriétés dif-

férentes inégalement efficaces. L'exemple de la morphine et du fluorure de sodium trouvent avec cette hypothèse une explication facile. Ces deux substances possèdent presque la même activité anticholinestérasique, mais, tandis que la première favorise l'action de l'acétylcholine, sur un muscle de sangsue non ésériné, à la concentration de 1 p. 500.000, la seconde reste sans aucune action à une concentration 100 fois supérieure.

Le pouvoir anticholinestérasique interviendrait donc uniquement pour empêcher l'acétylcholine d'être détruite et ne jouerait, dans certain sens, aucun rôle dans le mécanisme de l'action favorisante proprement dite.

Encore, pourrions-nous rappeler, ici, que certaines substances possèdent un pouvoir favorisant indiscutable à une certaine concentration, alors que leur activité anticholinestérasique, même mesurée vis-à-vis d'un extrait musculaire de sangsue, ne se manifeste qu'à partir d'une concentration beaucoup plus grande (eucodal favorisant à 1 p. 100.000.000, activité anticholinestérasique appréciable à partir de 1 p. 500.000 seulement).

Conclusions

Il ressort des discussions précédentes que, sauf le cas où il serait possible de faire appel à une hypothétique cholinestérase tissulaire ne diffusant pas dans un extrait musculaire de sangsue, une comparaison attentive établie entre le pouvoir sensibilisateur et le pouvoir anticholinestérasique montre que ce dernier ne joue, dans l'ensemble, qu'un rôle secondaire dans la sensibilisation de la musculature de sangsue à l'acétylcholine.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous avons comparé entre elles une quarantaine de substances chimiques classées :

a) Suivant leur pouvoir sensibilisant vis-à-vis de l'acétylcholine sur une préparation énervée, mais non ésérinée de sangsue ;

b) Suivant leur pouvoir sensibilisant sur une préparation ésérinée (addition après ésérine) ;

c) Suivant leur pouvoir sensibilisant sur une préparation ésérinée (addition avant ésérine) ;

d) Suivant leur pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis du sérum de cheval ;

e) Suivant leur pouvoir anticholinestérasique déterminé vis-à-vis d'un extrait musculaire de sangsue.

Une telle comparaison n'avait pu encore être faite, car l'on ne possédait pour chacun des groupes énoncés (sauf dans le cas du pouvoir anticholinestérasique mesuré vis-à-vis du sérum de cheval) que des résultats partiels provenant d'auteurs divers et dont le rapprochement était souvent rendu impossible par l'emploi de techniques différentes.

1° En ce qui concerne le groupe *a* (pouvoir sensibilisant vis-à-vis de l'acétylcholine sur une préparation de sangsue énervée mais non ésérinée), nous avons pu mon-

trer qu'à côté du sensibilisateur classique qu'est l'ésérine (FUHNER, 1918) non seulement la dihydrooxycodéinone (DASTUGUE, 1939) mais également la dihydrocodéinone possédaient un pouvoir sensibilisateur aussi marqué, contrairement aux autres substances dites favorisantes dont le pouvoir de potentialisation, si intense qu'il soit, est toujours très inférieur à celui de l'ésérine. Inversement, nous avons mis en évidence l'action fortement antagoniste d'un certain nombre de substances notamment la strychnine inhibitrice à la concentration de 1 p. 3.000.000.

2° En ce qui concerne les groupes *b* et *c* (action sensibilisante sur une préparation ésérinée), nous avons constaté pour plusieurs substances une action antagoniste. Ces substances antagonistes se répartissent en deux catégories suivant qu'en l'absence d'ésérine elles étaient déjà antagonistes (strychnine) ou au contraire favorisantes et cela parfois à un degré très élevé (prostigmine, morphine). Ce phénomène avait déjà été signalé dans le cas de certains alcaloïdes dérivés de la morphine, lorsque ceux-ci sont ajoutés après ésérine. Nous avons montré que d'autres substances possédaient également cette propriété, et, de plus, que le fait de faire agir ces substances avant ésérine augmentait leur pouvoir inhibiteur à ce point, qu'une substance favorisante après ésérine peut devenir inactive, une autre inactive devient inhibitrice, une troisième enfin antagoniste à une certaine concentration devient inhibitrice à une concentration inférieure. Ainsi, à titre d'exemple particulièrement démonstratif, nous citerons celui de la thionine, substance favorisante (sans ésérine) à 1 p. 50.000, inactive à 1 p. 5.000 quand elle est ajoutée après ésérine, et qui devient inhibitrice à la même concentration quand elle est ajoutée avant ésérine. Le mécanisme exact de ce phénomène est encore à déterminer.

3° En ce qui concerne les groupes *d* et *e* (action anticholinestérasique respectivement vis-à-vis du sérum de cheval et de l'extrait musculaire de sangsue), nous avons remarqué d'une façon générale, comme certains auteurs l'avaient déjà souligné pour quelques cas particuliers, qu'il n'existait pas de concordance étroite entre le pouvoir potentialisateur d'une drogue et son activité anticholinestérasique. Nous avons voulu voir si ces discordances ne provenaient pas du fait que l'activité anticholinestérasique avait toujours été déterminée vis-à-vis du sérum de cheval, et s'il ne serait pas plus logique, dans ce cas, de le déterminer vis-à-vis d'un extrait tissulaire de sangsue. La classification nouvelle, ainsi obtenue, présente, dans l'ensemble, une équivalence plus grande avec celle obtenue sur le pouvoir sensibilisateur, mais cette équivalence est encore loin d'être absolue.

De l'ensemble de ces résultats, il semble que l'on puisse dégager, au moins à titre d'hypothèse de travail, que le rôle anticholinestérasique des drogues sensibilisantes se bornerait à permettre à l'acétylcholine d'arriver intacte jusqu'au niveau des cellules réceptrices. Il suffirait, pour ce faire, d'un certain minimum de pouvoir antiestérasique, à partir duquel l'action sensibilisante d'une drogue ne serait plus en relation avec le pouvoir que cette drogue possède d'empêcher la destruction de l'acétylcholine par l'estérase, mais avec un mécanisme de sensibilisation proprement dite pouvant, d'ailleurs, varier d'un groupe de substances à un autre, et, qu'il reste à rechercher. De ce point de vue, l'étude des alcaloïdes dérivés de la morphine qui, pour des formules relativement très voisines, possèdent des pouvoirs potentialisateurs très différents, semblerait être la plus indiquée.

4° Enfin, supposant résolue la question du dosage de l'acétylcholine, on peut renverser le problème et con-

sidérer uniquement l'intensité avec laquelle certains alcaloïdes sont capables d'intensifier ou d'inhiber la réponse de la préparation à la substance vagale. Il y a là, si l'on peut dire, « en puissance », une méthode de dosage biologique, dont l'importance pratique pourrait être considérable et dont l'étude systématique est déjà en cours au laboratoire de Physiologie de Clermont.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

Les causes de l'ascension de l'eau dans les
vaisseaux du bois. •

LU ET ACCEPTÉ :

•

Les Membres du Jury :

H. CARDOT,
A. JULLIEN,
R. KUHNER.

VU ET APPROUVÉ :

Le doyen de la Faculté des Sciences:

R. DOUIN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lyon, le 31 Octobre 1940.

Le Recteur

Président du Conseil de l'Université :

A. LIRONDELLE.



BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE ⁽¹⁾

1. ANDERHALDEN (E) und PAFFRATH (H). — Beitrag zur Frage der Inkret Hormon Wirkung des Cholins auf die morischen Funktionen des Verdauungskanal. V. Ueber die Synthese von Cholinestern aus Cholin und Fettsäuren mittels des Dünndarmes. — *Erg. Fermentforschung*, 1925, 8, p. 229.
2. AGID (R), BONVALLET (M) et MINZ (B). — Sensibilisation par la vitamine B₁ de l'intestin isolé du rat et de l'appareil circulatoire du chat à l'action de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.*, 1937, 126, p. 982.
3. AMMON (R). — Die Fermentative Spaltung des Acetylcholins. — *Arch. f. Physiol.* 1933, 233, p. 486.
4. AMMON (R) und KWIATKOWSKI (H). — Die Bildung von Acetylcholins in Serum und Embryonalextrakt. — *Arch. f. Physiol.* 1934, 234, p. 269.
5. AMMON (R) und VOSS (G). — Die acetylcholinzerstörende Wirkung des Blutes. — *Pfluger's Arch. f. Phys.* 1935, 235, p. 393.
6. BACQ (Z. M.). — Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome. Nature cholinergique et adrénergique des diverses innervations vaso-motrices du pénis chez le chien. — *Arch. Int. Physiol.* 1935, 40, p. 311.
7. BACQ (Z. M.). — Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome. Les esters de la choline dans les extraits de tissus des invertébrés. — *Arch. Int. Physiol.* 1935, 42, p. 24.

(1) Pour plus de détails, voir : G. DASTUGUE : Etude critique et expérimentale du dosage de l'acétylcholine par les méthodes biologiques. — *Thèse doctorat ès-Sciences Naturelles*, Lyon, 15 Mars 1940.

8. BAYER (G) et WENSE (Th.). — Influence de l'histamine sur l'action de l'acétylcholine. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1936, 182, p. 533.
9. BERNHEIM (F) et BERNHEIM (M). — Action des drogues sur la cholinestérase du cerveau. — *Jour. of. Pharm.* 1936, 57, p. 427.
10. BINET (L) et MINZ (B). — Sur une substance sensibilisant à l'acétylcholine, formée dans le tronc du nerf vague au cours de l'excitation électrique. — *C. R. Soc. Biol.* 1934, 116, p. 107.
11. BINET (L) et MINZ (B). — Sur une substance sensibilisant à l'acétylcholine, formée par le tronc du nerf vague isolé, soumis à l'action du courant électrique. — *C. R. Soc. Biol.* 1934, 117, p. 1029.
12. BINET (L) et MINZ (B). — Sur une substance sensibilisant à l'acétylcholine, formée dans le tronc du nerf pneumogastrique au cours d'une excitation indirecte. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 118, p. 1130.
13. BROWN (G.L.), DALE (H.H.) et FELDBERG (W). — Réactions du muscle normal de mammifère à l'acétylcholine et à l'ésérine. — *J. Physiol.* 1936, 87, p. 394-424.
14. CLARK (A.J.). — L'antagonisme de l'acétylcholine par l'atropine. — *J. Physiol.* 1926, 61, p. 547-556.
15. CORTEGGIANI (E), GAUTRELET (J), HALPERN (N) et SERFATY (A). — Action inhibitrice de l'aldéhyde formique sur l'activité de la cholinestérase du sang. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 121, p. 316.
16. CORTEGGIANI (E). — Contribution à l'étude de l'acétylcholine libre et dissimulée sous forme de complexe dans le cerveau. — *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1938.
17. DALE (H.H.). — L'action de certains esters et éthers de la choline et leur relation avec la muscarine. — *Journ. of. Pharm.* 1914, 6, p. 147.
18. EMMELIN (N) und KAHLSOHN (G). — Über Beziehungen zwischen Kontraktionsgrösse von Kreatinin und Acetylcholine. — *Skand. Arch. f. Physiol.* 1937, 77, p. 297.
19. ENGELHARDT (E) und LOEWI (O). — Fermentative Azetylcholin spaltung im Blut, und ihre Hemmung durch Physostigmin. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1930, 150, p. 1.
20. FONTAINE (Th.). — Action sur le muscle de sangsue de divers poisons musculaires et de différentes substances biologiques. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 119, p. 1045.
21. FUHNER (H). — Die quantitative Bestimmung des Cholins auf biologischen Wege. — *Bioch. Ztsch.* 1916, 77, p. 408.
22. FUHNER (H). — Untersuchungen über den Synergismus von Griffen. Die chemische erregbarkeiteigerung glatter Muskulatur. — *Arch. f. exp. Path.* 1918, 82, p. 51.

23. FUHNER (H). — Ein Vorlesungsversuch zur Demonstration der erregbarkeitsteigern den Wirkung des Physostigmins. — *Arch. f. exp. Path.* 1918, 82, p. 81.
24. GAUTRELET (J). — La choline, son rôle hypotenseur dans l'organisme. Contribution à l'étude des coordinations fonctionnelles. — *C. R. Acad. Sc.* 1909, 1 p. 995 et *Journ. Physiol. et Path. gén.* 1909, p. 227.
25. GAUTRELET (J). — Contribution à l'étude de la choline dans la série animale. — *Congrès Int. de Physiol.* Vienne, 1910.
26. GAUTRELET (J), HALPERN (N) et CORTEGGIANI (E). — Le sort de l'adrénaline et de l'acétylcholine dans l'organisme. — *La Médecine*, 1933, p. 726.
27. GAUTRELET (J). — La choline et l'adrénaline dans l'organisme. Leur rôle dans la transmission humorale de l'excitation nerveuse limitée aux Vertébrés. — *Bull. Acad. Méd.* 1935, 113, p. 238.
28. GAUTRELET (J), CORTEGGIANI (E), KASWIN (A) et SERFATY (A). — Du mécanisme de la sensibilisation du muscle de sangsue par l'ésérine, vis-à-vis de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 122, p. 377-381.
29. GAUTRELET (J) et SCHEINER (H). — Détermination du pouvoir anticholinestérasique de différentes substances par la méthode de la décontraction du muscle droit de l'abdomen de la grenouille contracté par l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 131, p. 738.
30. GLICK (D). — Propriétés de la cholinestérase du sérum humain. — *Bloch. Journ.* 1937, 31, p. 521.
31. GOLLWITZER-MEIER (K) und KRUEGER. — Acetylcholin in Frischmilz und Frischblut. — *Arch. exp. Path.* 1934, 176, p. 642.
32. HUNT (R). — A physiological test for choline and source of its applications. — *Journ. of. Pharm. and exp. Therap.* 1915, 7, p. 310.
33. JULLIEN (A), VINCENT (D), BOUCHET (M) et VUILLET (M). — Observations sur l'acétylcholine et la cholinestérase chez les Mollusques. — *Ann. Physiol.* 1938, 14, p. 567.
34. JULLIEN (A), VINCENT (D), VUILLET (M) et BOUCHET (M). — Contribution à l'étude de l'automatisme cardiaque chez les Mollusques. 1^o Action de mimétiques et de drogues sur le cœur d'*Helix pomatia*. — *Journ. Physiol. et Path. Gén.* 1939, 37, p. 562.
35. KAHANE (E) et LÉVY (J). — Inhibition de l'hydrolyse de l'acétylcholine par le sérum. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 121, p. 1596.
36. KAHANE (E) et LÉVY (J). — Sur l'hydrolyse diastasique de l'acétylcholine par le sérum. — *C. R. Ac. Sc.* 1936, 202, p. 781.

37. KAHANE (E). — Recherches sur la biochimie de la choline et de ses dérivés. L'acétylcholine du sang. — *Bull. Soc. Chim. biol.* 1936, 18, p. 479.
38. KAHANE (E) et LÉVY (J). — Caractérisation et dosage de l'acétylcholine dans les substances biologiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1936, 18, p. 505.
39. KAHANE (E) et LÉVY (J). — Recherches sur la biochimie de la choline et de ses dérivés. Action du sang sur quelques ammoniums quaternaires à fonction ester. — *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1936, 18, p. 529.
40. KAHANE (E) et LÉVY (J). — Recherches sur la biochimie de la choline et de ses dérivés. Action des muscle de sangsue et de grenouille sur quelques ammoniums quaternaires à fonction ester. — *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1937, 19, p. 976.
41. KAHANE (E) et LÉVY (J). — Influence de quelques agents anti-estérasiqnes sur l'activité pharmacodynamique de l'acétylcholine. — *Soc. Biol.* 1937, 125, p. 252.
42. KAHANE (E) et LÉVY (J). — Sur le mécanisme de la sensibilisation à l'acétylcholine. — *C. R. Acad. Sc.* 1937, 204, p. 1752.
43. KAHANE (E) et LÉVY (J). — Sur le rôle de l'action antiestérasiqne dans le mécanisme de la sensibilisation à l'acétylcholine. — *Arch. Internat. Pharm. et Ther.* 1937, 57, p. 467.
44. KAHANE (E) et LÉVY (J). — Sur la possibilité de doser dans le plasma l'acétylcholine libre du sang. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 128, p. 10.
45. KAHANE (E) et LÉVY (J). — Influence de la morphine sur la contraction du muscle de sangsue par les dérivés de la choline. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 309.
46. KAHLSON (G) et UVNAS (B). — Contribution à la théorie de la sensibilisation pour l'acétylcholine, en même temps un rapport sur une augmentation de l'excitabilité par le fluorure. — *Skandin. Arch. Physiol.* 1935, 72, p. 215-329.
47. KASWIN (A). — Action inhibitrice des ammoniums quaternaires sur l'activité de la cholinestérase du sérum sanguin. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 859.
48. LANARI (A) et ORIAS (O). — Action de l'acétylcholine et l'atropine sur le mécanisme neuro-musculaire de la membrane nictitante. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 118, p. 586.
49. LOEWI (O) und NAVRATIL (E). — Ueber den Mechanismus der keit der Herznervenwirkung ; uber das Schicksal des Vagusstoffes. — *Arch. f. Physiol.* 1926, 214, p. 678.
50. LOEWI (O) und NAVRATIL (E). — Ueber den Mechanismus der Vaguswirkung von Physostigmin und Ergotamin. — *Arch. f. Physiol.* 1926, 214, p. 689.

51. MARNAY (A). — Action de l'acétylcholine sur le muscle isolé. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 1007.
52. MATTHES (K). — Action du sang sur l'acétylcholine. — *Journ. of Physiol.* 1930, 70, p. 338.
53. MINZ (B). — Recherches pharmacologiques sur la sangsue, méthode de caractérisation biologique de l'acétylcholine en présence d'autres substances analogues pharmacologiquement actives. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1932, 168, p. 292-304.
54. MINZ (B) et AGID (R). — *C. R. Acad. Soc.* 1937, 205, p. 576.
55. MINZ (B). — Sur la libération de la vitamine B₁ sur le tronc isolé du nerf pneumogastrique soumis à l'excitation électrique. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 127, p. 1251.
56. NACHMANSOHN (D). — Cholinestérase dans le tissu nerveux. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 127, p. 894.
57. NACHMANSOHN (D). — Distribution de la cholinestérase dans le cerveau humain. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 128, p. 24.
58. NACHMANSOHN (D). — Cholinestérase dans les fibres nerveuses. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 128, p. 516.
59. NACHMANSOHN (D). — Changements de la cholinestérase dans le muscle strié. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 128, p. 599.
60. NACHMANSOHN (D). — Cholinestérase dans le système nerveux central. — 16^e Congrès Int Physiol. 1938, Zurich.
61. NACHMANSOHN (D). — Sur l'inhibition de la cholinestérase. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 1065.
62. CURY (A). — Modifications par la caféine des effets de l'acétylcholine sur le cœur de tortue et le muscle strié de grenouille. — *Arch. Int. Physiol.* 1937, 44, p. 488.
63. PLATTNER (F), GALEHR (O) und KEDERA. — Ueber das Schicksal des Acetylcholins im Blut-Pflüg. — *Arch. Ges. Phys.* 1928, 219, p. 678.
64. PLATTNER (F) und GALEHR (O). — Ueber das Schicksal des Acetylcholins im Blute. V. Der Einfluss verschiedener Narkotica auf die Spaltung des Acetylcholins. — *Arch. f. Physiol.* 1928, 220, p. 606.
65. PLATTNER (F) und HINTNER (H). — Die Spaltung von Acetylcholin durch Organextrakte und Körperflüssigkeiten. — *Arch. f. Physiol.* 1930, 225, p. 19.
66. QUASTEL (J.H.) et TENNENBAUM (M). — Action de la morphine et de ses dérivés sur les concentrations du muscle de sangsue dues à l'acétylcholine, à la choline et à la nicotine. — *J. Pharmac. exp. Ther.* 1937, 60, p. 228.
67. STEDMAN (E) et STEDMAN (E.). — Studies on the relations-hip between chemical constitution and physiological action.

- III et IV. The inhibitory action of certain synthetic urethanes on the activity of liver esterase. — *Bioch. Journ.* 1931, 25, p. 1147 ; et 1932, 26, p. 1214.
68. STEDMAN (Ed. et El.) et EASSON (L.H.). — Cholinesterase an enzyme present in the blood serum of the horse. — *Bioch Journ.* 1932, 26, p. 2056.
69. TIFFENEAU (M) et SCHEINER (H). — Etude du mécanisme de la cessation des effets de l'acétylcholine sur les fibres lisses malgré un contact prolongé. - Probabilité d'un phénomène d'adaptation. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 627.
70. VILLARET (M), JUSTIN-BESANÇON (L) et CACHERA (R). — Recherches sur les dérivés de la choline. L'apnée cholinique. Action de l'adrénaline, de l'atropine et de la lobéline. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 103, p. 771.
71. VILLARET (M), JUSTIN-BESANÇON (L) et CACHERA (R). — Recherches sur les dérivés de la choline. Sur le mécanisme de la polypnée provoquée par l'injection intraveineuse de la choline et de ses dérivés. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 103, p. 772.
72. VINCENT (D). — L'acétylcholine et son rôle dans l'organisme animal. — *Thèse Doct. ès-Sc.* Lyon 1938.
73. WACHHOLDER (K) und MATTHIAS (F). — Ein fluss verchieden zusammengesetzter Ringerlösung (Sommer und Winter-ringer) auf das Kontrakturvermögen von Freschmuskeln. — *Pflüger's Arch.* 1933, 232, p. 159.
-

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	11
--------------------	----

PREMIERE PARTIE

ACTION SENSIBILISANTE

CHAPITRE I

Action sensibilisante sur une préparation non éserinée

Technique	17
Résultats	18
Substances favorisantes	20
Travaux antérieurs	20
Pouvoir de fixation	22
Constitution chimique et action pharmacodyna- mique	25
Substances inactives	28
Substances antagonistes	28
Conclusions	32

CHAPITRE II

Action sensibilisante sur une préparation éserinée (addition *après* éserine)

Travaux antérieurs	35
Technique	36

Résultats	36
Discussion	38
Les substances favorisantes	38
Les substances inactives	39
Les substances antagonistes	42
Conclusions	43

CHAPITRE III

Action sensibilisante sur une préparation esérinée (addition *avant* ésérine)

Technique	45
Résultats	46
Discussion	47
Les substances favorisantes	47
Les substances inactives	47
Les substances antagonistes	48
Les antagonistes permanents	50
Les antagonistes accidentels	50
Conclusions	52

DEUXIEME PARTIE

ACTION ANTICHOLINESTERASIQUE

GÉNÉRALITÉS

La Cholinestérase

La cholinéestérase	57
Les inhibiteurs de la cholinestérase	59
Influences physiques	59
Influences chimiques	59
Discussion	61

CHAPITRE I

Action sensibilisante et action anticholinestérasique **vis-à-vis du sérum de cheval**

Technique	63
Résultats	67

Discussion	68
Les substances favorisantes	68
Les substances inactives	70
Les substances antagonistes	71
Conclusions	72

CHAPITRE II

Action sensibilisante et action anticholinestérasique vis-à-vis d'un extrait de sangsue

La cholinestérase du muscle de sangsue	76
Technique	76
Résultats	81
Doses favorisantes et doses anticholinestérasiques effi- caces	82
Discussion	82
Conclusions	86

CHAPITRE III

Activités cholinestérasiques du sérum de cheval et des extraits musculaires de sangsue

Discussion	89
Conclusions	94
Résumé et conclusions générales	95
Bibliographie	101

IMPRIMERIE MODERNE, CLERMONT-FERRAND

